

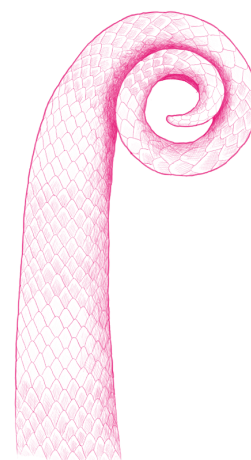
Capítulo 4

Un universo inexplorado: Venenos y toxinas de los colúbridos

Juan David Bayona-Serrano, Kristian Alberto Torres-Bonilla, Teddy Angarita-Sierra

Resumen: Entre los estudios toxicológicos de los venenos de serpientes existe un sesgo histórico hacia la comprensión de los venenos de las serpientes con colmillos frontales (vipéridos y elápidos), debido a que se consideran de mayor importancia médica. En consecuencia, se ha desatendido el estudio de los venenos y toxinas de las serpientes aglifas y con colmillos maxilares traseros (opistoglifas), haciendo que la mayoría de las especies de colúbridos carezcan de información sobre la composición o función de su veneno. Sin embargo, en las últimas dos décadas numerosos estudios han expuesto la increíble diversidad de toxinas y actividades biológicas de los venenos de los colúbridos. No obstante, estas investigaciones solo han revelado parcialmente su riqueza y variabilidad, convirtiéndolas en uno de los más interesantes y promisorios campos de investigación para la búsqueda de nuevos tipos de proteínas y funciones enzimáticas. En este capítulo resumimos la información disponible sobre las toxinas y venenos de los colúbridos colombianos, así como la información disponible sobre su epidemiología y su significado biológico. Además, contrastamos esa información con sus posibles aplicaciones, datos evolutivos y perspectivas futuras, con la esperanza de aumentar el interés de la comunidad científica por este asombroso grupo de serpientes «no-venenosas» y en su mayoría inofensivas.

Palabras clave: Colubridae, serpientes con colmillos traseros, veneno, enzimas proteolíticas, envenenamiento.



Citación: Bayona-Serrano JD.; Torres-Bonilla KA.; Angarita-Sierra T. Capítulo 4. Un universo inexplorado: Venenos y toxinas de los colúbridos. En el libro: *Mordeduras, venenos y serpientes venenosas de Colombia*; Angarita-Sierra, T., Ruiz-Gómez, FJ, Eds.; Instituto Nacional de Salud: Bogotá D.C., Colombia, 2024; pp. 179–216. doi:10.33610/696192ngczdp



Copyright: © 2024 por los autores. Publicación de acceso abierto bajo los términos y condiciones de licenciamiento Creative Commons Atribución (CC BY-NC-ND 4.0) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Ilustraciones por:
Oscar A. Ramírez Ruiz

1. Introducción

Durante las últimas cuatro décadas, las toxinas encontradas en los venenos de las familias Viperidae y Elapidae (ver Capítulos 2 y 3) se han estudiado a fondo utilizando enfoques composicionales, funcionales y evolutivos debido a su importancia médica (ver Capítulos 8 y 9) [1–3]. Los venenos de vipéridos y elápidos han recibido una enorme atención debido a los envenenamientos graves y potencialmente mortales que pueden ocurrir cuando las poblaciones humanas transforman sus hábitats naturales, aumentando la probabilidad de accidentes o encuentros desafortunados entre humanos y serpientes (ver Capítulo 9) [1,4–7]. Estos estudios han revelado una increíble diversidad de funciones y estructuras proteicas que estaban ocultos dentro de los venenos de las serpientes; así como una gran cantidad de variación intraespecífica con bases ontogenéticas y geográficas [1]. Sin embargo, la mayor parte de su diversidad se encuentra dentro de un grupo de serpientes comúnmente conocido como colúbridos (Superfamilia Colubroidea *sensu* Zaher et al. [9]), las cuales han estado fuera del centro de atención de los estudios toxinológicos durante la mayor parte de la historia [8–11].

En Colombia, los colúbridos representan ~85% de las 340 especies de serpientes actualmente reconocidas y se distribuyen en ~60 géneros [8]. Estas serpientes poseen un amplio espectro de rasgos morfológicos y fisiológicos que las separan de las serpientes con colmillos frontales (vipéridos y elápidos) [12–14]. Los colúbridos están dotados de una glándula maxilar secretora, llamada glándula de Duvernoy, que es homóloga (similar en posición, estructura y origen evolutivo) a la glándula venenosa de víboras y elápidos [13–15]. Esta glándula produce toxinas y está conectada a los dientes de acuerdo a los dos tipos diferentes de dentición maxilar presentes en los colúbridos. El primer tipo de dentición, conocida como aglifa, consiste en filas de dientes indiferenciados en forma y tamaño relativo, sin la presencia de colmillos acanalados. El segundo tipo conocido como dentición opistoglifa, se caracteriza por la presencia de colmillos acanalados agrandados en la parte posterior de la maxila [13–17].

Estas características les otorgaron diferentes mecanismos para someter a la presa, incluida la constricción, la inoculación de veneno o una combinación de ambos mecanismos. Además, los colúbridos exhiben un amplio espectro de especializaciones ecológicas que les permiten adaptarse a una gran variedad de hábitats, dietas y comportamientos [12,18–24]. Si bien la mayoría de los colúbridos son terrestres o arbóreos y se alimentan principalmente de aves, mamíferos, anfibios u otros reptiles, algunas especies están especializadas para prosperar en ambientes acuáticos o semifosoriales, cambiando su presa preferida a peces e invertebrados [16,19,22,24–27].

Los colúbridos exhiben múltiples especializaciones ecológicas que van acompañadas de cambios igualmente diversos en la función de sus venenos. Algunas especies poseen venenos dominados por enzimas proteolíticas (enzimas que descomponen otras proteínas) similares a las que se

encuentran en las víboras; otras emulan el perfil neurotóxico común en elápidos; y algunos grupos incluso han perdido la glándula de Duvernoy por completo [1,11,15,16,28–33].

El sistema de inoculación de veneno de los colúbridos tiende a ser menos eficiente que el de los vipéridos y elápidos, principalmente porque su glándula de Duvernoy no posee la inserción de un músculo compresor que genere la presión necesaria para que el veneno consiga ser inyectado eficientemente en el tejido de sus presas [1,15,16]. La falta de un sistema eficiente de administración de veneno es una de las principales razones por las que estas serpientes se consideran menos relevantes desde el punto de vista médico. Por lo tanto, sus venenos han sido poco estudiados en comparación con sus contrapartes de las familias Viperidae y Elapidae [10,11,34]. Este sesgo médico transformó a estas especies en un grupo desatendido dentro de las ciencias toxicológicas a nivel mundial, y las especies colombianas no son la excepción.

Aunque varios colúbridos poseen veneno, solo un pequeño número de géneros distribuidos en Colombia han sido reportados como causantes de envenenamiento severo o leve en humanos [35]. Sin embargo, los accidentes con algunas especies pueden estar lejos de ser inofensivos y han sido subestimados en los estudios epidemiológicos realizados en el país [17,36] (ver Capítulo 9). Además, debido a la escasez de información sobre el número real de accidentes anuales que involucran colúbridos, el conocimiento en torno a sus actividades biológicas y la composición de sus venenos es muy pobre, lo que profundiza aún más el sesgo de conocimiento ya existente [10].

Este sesgo no solo se debe a la importancia médica relativamente baja que se les otorga, sino también a varios factores que hacen que la investigación de los venenos de colúbridos sea una tarea ardua. Por ejemplo, la dificultad de mantener de manera eficiente a estas serpientes en cautiverio y extraer veneno con fines de investigación, los bajos rendimientos del veneno, la escasa posibilidad de encontrar especies con colmillos traseros que produzcan veneno, la baja toxicidad en humanos y en modelos murinos, el alto índice de especificidad de sus toxinas y la lenta propagación de su veneno cuando se inyectan en los tejidos, son algunas de las principales razones que hacen que los estudios de los venenos de las especies de colúbridos avancen con lentitud [37–41].

La mayoría de los colúbridos colombianos carecen de datos sobre la composición, los efectos farmacológicos o la función biológica de su veneno o secreciones orales. Afortunadamente, estudios recientes realizados con especies colombianas y no colombianas han revelado parcialmente la enorme diversidad de toxinas presentes en este grupo de serpientes [11,32–34,42]. En varios venenos de especies de colúbridos se han reportado mezclas complejas de proteínas con innumerables actividades enzimáticas y no enzimáticas, similares a las observadas en los venenos de víboras y elápidos. Esto convierte a los colúbridos en una promisorio e interesante fuente de nuevas toxinas no descritas anteriormente.

Estudios funcionales han revelado que algunos venenos de colúbridos muestran potencias similares a las de las víboras. Las mordeduras de estas especies de colúbridos pueden incluso inducir manifestaciones clínicas graves que podrían incapacitar al paciente [17,36,51,43–51]. En este capítulo revisaremos la información disponible sobre la composición, función y manifestaciones clínicas del veneno de los colúbridos distribuidos en Colombia, enfocándonos en el potencial sin explotar que tiene este grupo y el futuro de los estudios toxinológicos en el panorama colombiano.

2. El veneno de los «colúbridos»

La mayor parte de la diversidad de serpientes en Colombia está contenida dentro de un solo grupo de especies opistoglifas y aglifas (ver Capítulo 1) conocido como la superfamilia Colubroidea [8]. Actualmente, hay tres subfamilias reconocidas que habitan en Colombia: Colubrinae (~50 especies en ~15 géneros), Dipsadinae (~187 especies en ~44 géneros) y Sibynophiinae (1 especie en 1 género). No obstante, es muy escaso el conocimiento en torno al veneno de los colúbridos y solo está disponible para algunos géneros de las subfamilias Colubrinae y Dipsadinae, centrándose en información que describe su función y composición [11,28,55–57,29,32–34,42,52–57]. En esta sección discutiremos las tendencias observadas en los venenos de ambas subfamilias de colúbridos colombianos.

2.1. Subfamilia Colubrinae

Históricamente, la mayoría de los géneros y especies de esta subfamilia carecen de cualquier tipo de información relacionada con el veneno [10,11]. Recientemente, ha habido un aumento continuo en la cantidad de información publicada sobre sus venenos. Varios trabajos que incluyen especies asiáticas, africanas y americanas han revelado un gran repertorio de toxinas funcionalmente diversas [11,28,29,52,55,58–61].

Los venenos de algunas especies de este grupo se asemejan a los venenos de las víboras (ver Capítulo 3), poseen un perfil de veneno dominado por metaloproteinasas de veneno de serpiente (SVMP), un grupo de enzimas que degradan el tejido, causan hemorragia y otras manifestaciones locales [58,61]. Sin embargo, la mayor parte de la diversidad de toxinas que se encuentran en esta subfamilia se compone de neurotoxinas de acción postsináptica, no enzimáticas, conocidas como toxinas de tres dedos (3FTxs) [28,52,55,59,60]. Estas proteínas son componentes comunes de los venenos de elápidos (ver Capítulo 5), que causan un potente bloqueo neuromuscular que conduce a la asfixia por paro respiratorio y una muerte rápida [3,62]. Curiosamente, las 3FTxs de Colubrinae parecen haber evolucionado para actuar de forma específica, siendo más tóxicas para ciertos tipos de presas [63]. Debido al amplio espectro de presas de las que se alimentan las especies de la subfamilia Colubrinae que poseen 3FTxs, sólo podemos formular hipótesis sobre la diferente cantidad de posibilidades funcionales que se ocultan en sus neurotoxinas tan específicas.

En Colombia, todas las especies con venenos caracterizados, exhiben un perfil neurotóxico notable con un patrón de composición simple en términos del número de clases de toxinas. Los géneros *Spilotes*, *Leptophis*, *Tantilla*, *Rhinobothryum* y *Oxybelis* contienen las especies con información de composición disponible actualmente [29,30,52,55,60]. Sus venenos están dominados por 3FTx neurotóxicas y proteínas secretoras ricas en cisteína (CRISP, ver Capítulo 5). Estas últimas son una clase de toxinas que se observan comúnmente en la mayoría de los miembros de Colubridae, las cuales interfieren con la contracción del músculo liso al bloquear canales iónicos [1,64,65].

Además, en la mayoría de los géneros estudiados se reportan toxinas como las SVMP y las lectinas de tipo C (CTL), asociadas con efectos locales como hemorragia, edema, necrosis y trastornos hemostáticos relacionados con las plaquetas [66]. En la mayoría de los venenos de Colubrinae presentes y estudiados en Colombia, su composición presenta un perfil neurotóxico dominante, lo cual concuerda con las bajas actividades hemorrágicas y mionecróticas [30]. No obstante, estos estudios se realizaron con muestras de veneno de poblaciones extranjeras, por lo cual las actividades biológicas de las poblaciones colombianas es desconocida. La variación geográfica intraespecífica de los venenos de colúbridos está aún poco explorada y es un área de investigación sin resolver para las poblaciones colombianas (ver Capítulo 5).

Curiosamente, la glándula de Duvernoy no es la única glándula cefálica productora de toxinas que se encuentra en las especies de Colubrinae. Un estudio reciente con una especie del género *Tretanorhinus* reveló que la glándula de Harder también es capaz de producir transcritos semejantes a toxinas con niveles de expresión elevados [54]. Esta glándula se encuentra detrás del ojo de las serpientes y está próxima a la glándula de Duvernoy. Se cree que está estrechamente relacionada con la glándula lagrimal que ayuda en la lubricación del ojo, pero se ha propuesto que cumple otras funciones, siendo una glándula salival accesoria que puede secretar enzimas digestivas o proporcionar una fuente de lubricación [67,68].

El perfil de expresión de la glándula de Harder de *Tretanorhinus variabilis* reveló una serie de posibles toxinas que incluyen SVMP del tipo P-III, CTL y CRISP, que son tres de las principales clases de toxinas reportadas en otros Colubrinae [57]. Estos hallazgos indican que la producción de proteínas similares a toxinas no se limita a la glándula de Duvernoy en colúbridos, pero no está claro si estas otras glándulas que producen proteínas semejantes a toxinas representan una ventaja trófica (función ecológica).

En general, esta subfamilia contiene especies con venenos altamente neurotóxicos específicos para sus presas dominados por 3FTxs y CRISPs. No obstante, las dianas moleculares, la caracterización bioquímica y la función de las toxinas de estos colúbridos siguen siendo pobremente estudiados. Por lo tanto, representan un modelo interesante para explorar nuevos mecanismos moleculares que podrían explotarse farmacoló-

gicamente, ya que interactúan con varios canales iónicos que modulan las respuestas nerviosas [62,65]. Sin embargo, la mayoría de las especies y géneros distribuidos dentro del territorio colombiano carecen de los datos de composición. Estos son indispensables para obtener una mejor comprensión de los procesos evolutivos que podrían estar dando forma a la composición y función del veneno.

2.2. Subfamilia Dipsadinae

En contraste con los venenos dominados por neurotoxinas ampliamente representados en las serpientes de la subfamilia Colubrinae, la subfamilia Dipsadinae tiene un perfil de veneno más proteolítico con algunas excepciones (p. ej., el género *Helicops*) [11,42]. La subfamilia Dipsadinae contiene algunos géneros reportados como de importancia médica ya que han causado casos graves de envenenamiento con predominio de síntomas locales (p. ej., hemorragia, edema, necrosis) [31–33,53,69–71]. Los estudios de composición realizados en géneros colombianos revelaron que los venenos de los Dipsadinae están ampliamente dominados por SVMP del tipo P-III y CTL, lo que concuerda con la mayoría de los síntomas de los cuadros clínicos reportados en los casos de envenenamiento [11,32–34,42].

Sin embargo, un estudio reciente encontró que tres tribus de esta subfamilia (Tachymenini, Xenodontini y Conophiini) tienen como componente enzimático principal de sus venenos un tipo diferente de metaloproteínasa [42,53]. Estas enzimas se identificaron como metaloproteinasas de matriz de veneno de serpiente (svMMP), y representan tres eventos independientes de reclutamiento génico en la historia evolutiva de este grupo de serpientes (ver detalle en el numeral 4 de este capítulo).

Además, la tribu Hydropsini posee un patrón composicional que no está dominado ni por SVMP ni por svMMP, coincidiendo con el perfil de veneno neurotóxico reportado en *Helicops angulatus* y los perfiles dominados por CTL observados en otras especies del género [42,72,73]. Así, podemos separar tres grandes grupos composicionalmente diferentes de venenos de Dipsadinae: (1) géneros con venenos dominados por P-III SVMPs (p. ej., *Leptodeira*, *Pseudoboa*, *Philodryas* y *Oxyrhopus*) [11,32,34,57]; (2) géneros con venenos dominados por svMMPs (p. ej., *Erythrolamprus*, *Lygophis* y *Thamnodynastes*) [11,42,56]; y (3) géneros con un perfil único caracterizado por una abundancia de CRISPs y CTLs, similar a lo que se encuentra en algunas especies de Colubrinae (p. ej., *Helicops*) [42,72, 73].

Los análisis funcionales realizados en especies de *Philodryas*, *Leptodeira*, *Thamnodynastes*, *Erythrolamprus* y *Pseudoboa* confirman las actividades proteolíticas predichos por los análisis composicionales mencionados anteriormente. La mayoría de las especies de Dipsadinae muestran fuertes actividades proteolíticas en ensayos *in vitro*, incluso comparables a las actividades observadas en algunas especies del género *Bothrops* [32–34,42,53].

Curiosamente, en algunas especies de la tribu Pseudoboini (géneros *Clelia* y *Boiruna*), se ha detectado un nuevo tipo de fosfolipasa A₂ (PLA₂)

como toxina dominante [11,61,73]. Esta PLA₂ es diferente a las que se encuentran en víboras y elápidos (ver Capítulo 5), ya que pertenecen al grupo IIE, relacionadas típicamente con el tejido cerebral, cardíaco y uterino de los mamíferos [1,74]. Recientemente, un análisis transcriptómico y proteómico de toda la tribu reveló que estas PLA₂-IIE que dominan el veneno de estos géneros poseen una cola C-terminal más corta en comparación con la proteína endógena que cumple funciones fisiológicas en otras serpientes [73]. Este acortamiento podría ser un proceso convergente a lo que se observa en otras toxinas enzimáticas que han evolucionado en andamiajes más compactos a partir de un gen endógeno más grande [73].

Aunque todavía hay poca información disponible sobre este tipo de toxinas, se espera que sean enzimas secretoras dependientes de calcio que tienen como diana principal fosfolípidos extracelulares, ya que sus estructuras primarias y terciarias se asemejan a las observadas en las PLA₂ de los vipéridos [73]. Además, los ensayos enzimáticos con venenos de la tribu Pseudoboini confirmaron que son catalíticamente activas, con niveles de actividad *in vitro* similares a los observados en venenos ricos en PLA₂ de los vipéridos [1,73,74]. Este predominio de PLA₂ es único entre los venenos de los colúbridos hasta ahora conocidos, y representa el quinto reclutamiento del andamiaje de PLA₂ a los venenos de serpientes, lo que demuestra que el veneno tiende a converger hacia los mismos andamiajes de toxinas óptimos en diferentes familias de serpientes [73].

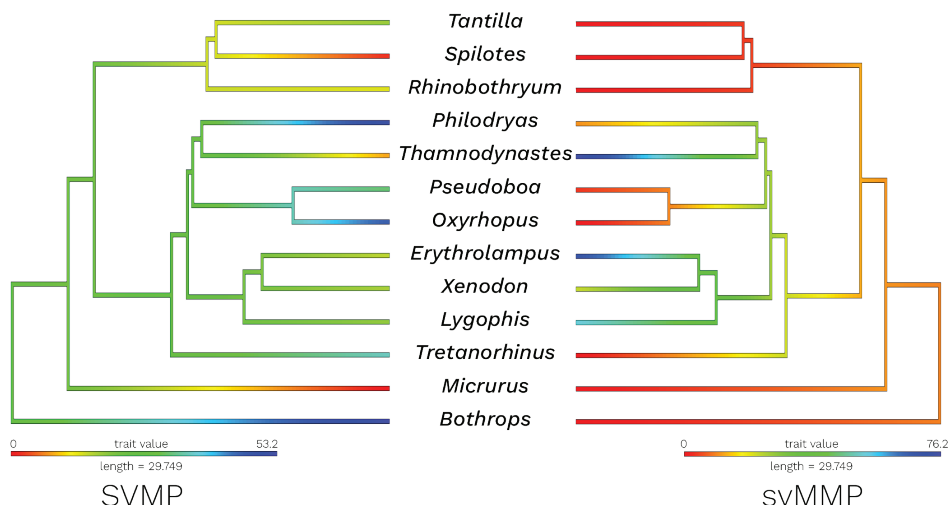
Adicionalmente, se ha reportado una lipasa ácida como una posible toxina nueva en el veneno de *Phalotris mertensi* (Falsa coral) que podría representar el reclutamiento de un nuevo tipo de toxina para el arsenal de los venenos de los colúbridos [74]. En general, los estudios de venenos de colúbridos han resultado en el descubrimiento de varias proteínas tóxicas novedosas que en algunos casos conducen a una convergencia fenotípica con serpientes con colmillos frontales, y en otros, dan como resultado componentes únicos para los colubridos [11,42,61,75].

2.3. Tendencias composicionales de los venenos de colúbridos

Comparando las tendencias generales observadas en las composiciones de veneno de los colúbridos tanto del transcriptoma como en el proteoma, aparecen algunos patrones interesantes (Figuras 1 y 2). El dominio general de los venenos proteolíticos en la subfamilia Dipsadinae es claro. Dos tipos distintos de metaloproteinasas dependientes de zinc parecen haber sido reclutados en el arsenal de venenos de esta subfamilia (Figura 1) [42]. Las SVMP están presentes en varios grupos de serpientes avanzadas (ver Capítulos 3 y 5) y es probable que hayan sido reclutadas ancestralmente antes de la separación de las víboras y todas las demás serpientes venenosas [11,76–79].

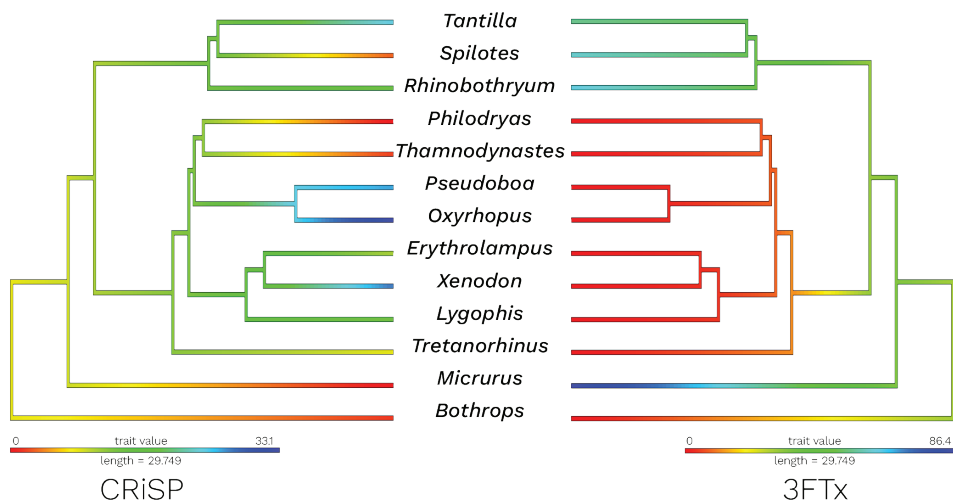
Por otro lado, algunas tribus (Conophiini, Tachymenini y Xenodontini) de la subfamilia Dipsadinae poseen otro tipo de enzima proteolítica (svMMP) que domina sus venenos. Es probable que estas proteínas hayan sido reclutadas recientemente en las glándulas venenosas de especies de Dipsadinae, siendo la clase de toxina dominante en algunos grupos [42].

Figura 1. Reconstrucción de estado ancestral de datos de composición para SVMP (izquierda) y svMMP (derecha). El color rojo indica proporciones más bajas de la toxina, mientras que los colores azules indican proporciones más altas; la escala de color amarillo a verde representa proporciones moderadas. Los datos de *Rhinobothryum* se obtuvieron de análisis proteómicos [52] y los datos de *Tretanorhinus* pertenecen a un estudio que analizó la glándula de Harder [54]. *Micrurus* y *Bothrops* se utilizaron como grupos externos [80,81]. Las longitudes de las ramas se obtuvieron de Zaher et al. [9].



Los venenos de las especies de colubrinae muestran venenos altamente neurotóxicos dominados por 3FTx, toxinas postsinápticas que causan bloqueos neuromusculares al actuar en la placa terminal motora (Figura 2) [62]. Este patrón de composición se asemeja al observado en algunas serpientes coral y marca una diferencia notable entre los venenos de Colubrinae y Dipsadinae. Sin embargo, algunas especies de la subfamilia Dipsadinae poseen efectos neurotóxicos, pero se cree que están mediados por CRISP o que son efectos secundarios de la acción proteolítica de sus toxinas [53,72].

Figura 2. Reconstrucción de estado ancestral de datos de composición para CRISP (izquierda) y 3FTx (derecha). El color rojo indica proporciones más bajas de la toxina, mientras que los colores azules indican proporciones más altas. La escala de color amarillo a verde representa proporciones moderadas. Los datos de *Rhinobothryum* se obtuvieron de análisis proteómicos [52] y los datos de *Tretanorhinus* pertenecen a un estudio que analizó la glándula de Harder [54]. *Micrurus* y *Bothrops* se utilizaron como grupos externos [80,81]. Las longitudes de las ramas se obtuvieron de Zaher et al. [9].



En general, los venenos de las especies de colúbridos poseen una diversidad de toxinas similar a la de las víboras y los elápidos (ver Capítulos 2 y 5), con algunos grupos que poseen venenos altamente neurotóxicos dominados por 3FTx y otros venenos altamente proteolíticos dominados por SVMP/svMMP (Figura 3). Además, aunque la gran mayoría de las especies de colúbridos carecen de cualquier tipo de información relacionada con el veneno, ya se ha descubierto una enorme diversidad de estructuras y funciones de toxinas exclusivas de este grupo de serpientes [11,37,42].

Estos patrones convergentes y divergentes indican que los cambios en la composición del veneno podrían estar relacionados tanto con la inercia filogenética como con factores ecológicos que conducen a la convergencia [42,82,83].

Esta dualidad ya se ha observado en el pasado en la variación de la actividad de dos toxinas enzimáticas de especies de elápidos australianos. Por ejemplo, aunque en general la actividad enzimática está fuertemente correlacionada a la filogenia, dos especies de serpientes estrechamente relacionadas del género *Denisonia*, y con dietas especializadas en ranas, mostraron una baja correlación entre en la actividad enzimática de sus venenos [82]. Por lo tanto, puede haber factores subyacentes desconocidos que dan forma a la composición y función del veneno en especies de serpientes con colmillos delanteros, colmillos traseros e incluso aglifas. Se necesitan estudios que vinculen las variables ecológicas con los datos de composición y funcionalidad del veneno, junto con información filogenómica, para obtener una mejor comprensión de los procesos evolutivos que moldean el fenotipo del veneno de las serpientes actuales, especialmente en especies de colúbridos.

TOXINAS DE SERPIENTES NO VENENOSAS

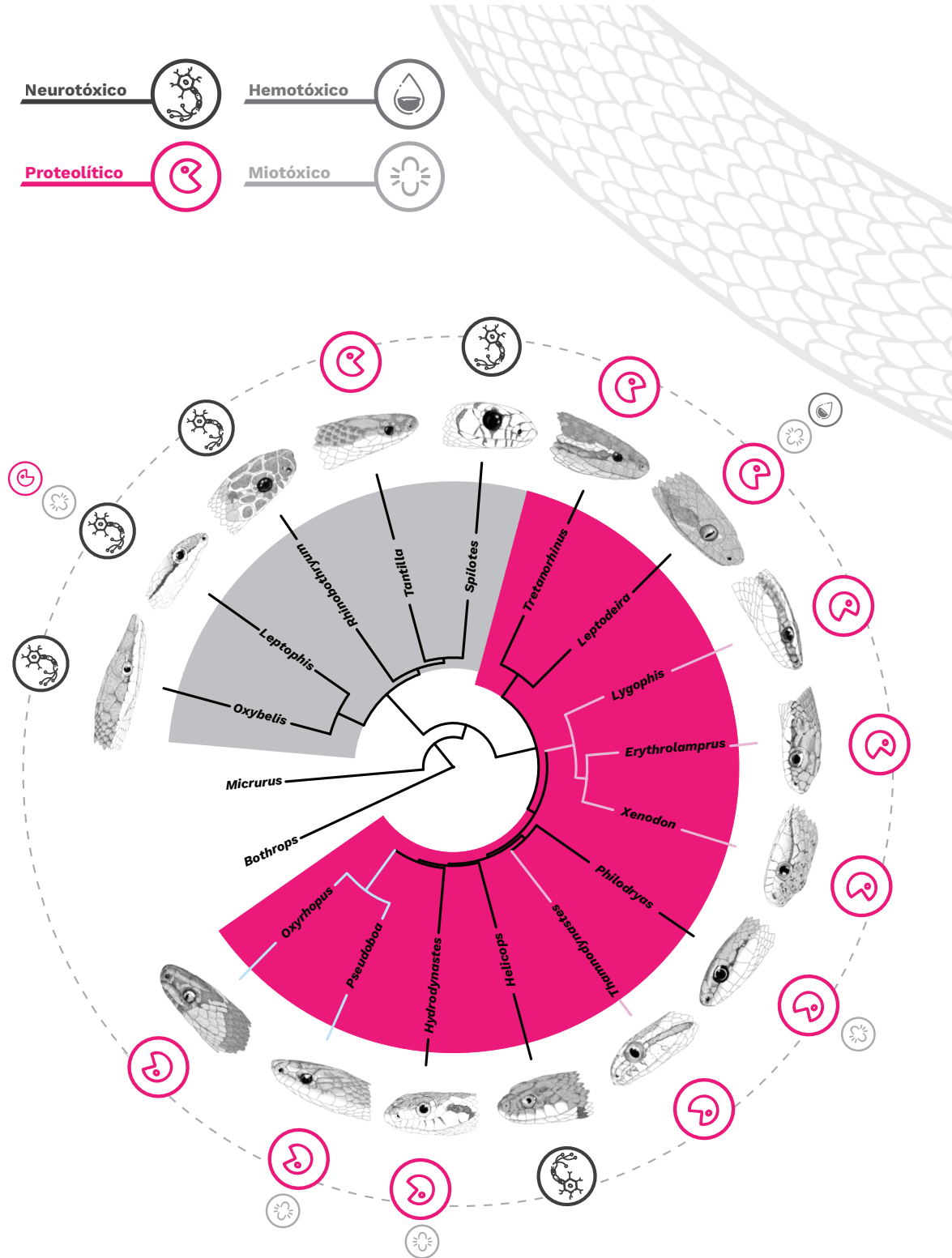


Figura 3. Esquema general de los perfiles de veneno conocidos en colúbridos.

2.4. Aspectos venómicos de los colúbridos colombianos

El envenenamiento por colúbridos en Colombia es poco conocido, por lo tanto, la relevancia clínica de estas especies en los accidentes por mordeduras de serpientes ha sido históricamente subestimada [106]. Esto no significa que el envenenamiento por colúbridos no ocurra. De hecho, durante la última década se notificaron un total de 347 casos en Colombia (ver Capítulo 9), de los cuales los causados por *Leptodeira annulata* y *Erythrolamprus bizona* fueron documentados en detalle [106,107]. Sin embargo, la verdadera incidencia de mordeduras causados por colúbridos permanece oculta. A continuación, presentamos la información toxinológica disponible de los colúbridos (aglifas y opistoglifas) de importancia médica en Colombia.

Género *Erythrolamprus*.— Recientemente, se encontró que los venenos de este género están dominados principalmente por una novedosa familia de proteínas conocida como metaloproteinasas de matriz de veneno de serpiente (svMMPs), así como por otras toxinas menores como SVMs, CTLs y CRISPs [42]. Funcionalmente, el veneno de las poblaciones colombianas de *Erythrolamprus bizona* produce un bloqueo neuromuscular parcial, causando alteraciones morfológicas notables como desorganización de los fascículos musculares, edema intersticial y necrosis de las fibras musculares [56]. No obstante, los efectos neuromusculares observados parecen ser el resultado de la alta actividad proteolítica de sus toxinas, y no un mecanismo neurotóxico, coincidiendo con el perfil principalmente proteolítico de las toxinas reportadas que componen su veneno [56].

Complejo de especies *Leptodeira annulata*.— Esta especie es conocida por su comportamiento no agresivo [108]. Sin embargo, se han reportado casos de envenenamiento local moderado en casos de manipulación inadecuada de estas serpientes [106,109]. Se han realizado estudios del veneno de poblaciones colombianas del Valle del Magdalena [33,34], encontrando bandas proteicas con masas moleculares de ~15 kDa a ~140 kDa. Las bandas más conspicuas se observaron a ~35 kDa, ~40 kDa y ~50 kDa, así como una banda prominente en el frente de migración (~15 kDa). Además, el análisis cromatográfico (RP-HPLC) mostró un total de 38 picos separados, lo que indica una alta complejidad en la composición del veneno, que puede ser igual o superior a la observada en algunos venenos de especies de vipéridos del género *Bothrops* [34].

Recientemente, se realizó la caracterización toxinológica completa del veneno de *L. annulata*. El veneno no presentó actividad de esterasas, oxidasa de L-aminoácidos o actividad similar a la trombina, pero presentó actividad proteolítica sobre varios sustratos, incluyendo fibrina, fibrinógeno, gelatina y caseína. La actividad proteolítica probablemente es mediada por metaloproteinasas, ya que fue inhibida únicamente por quelantes de iones metálicos (EDTA y fenantrolina) [34]. Además, el veneno no agregó plaquetas de rata ni inhibió la agregación inducida por colágeno, no obstante, inhibió parcialmente la agregación inducida por trombina. El veneno de este complejo de especies presentó actividad hemorrágica (inhibido por EDTA) y aumentó la permeabilidad vascular en las pruebas

realizadas en la piel dorsal de ratas. Adicionalmente, el veneno produjo mionecrosis en músculo gastrocnemio e incrementó las concentraciones sistémicas de creatina quinasa [34].

El veneno de *Leptodeira annulata* aplicado a preparaciones nervio-muscular de aves produjo un bloqueo neuromuscular moderado sin causar un bloqueo completo. Además, inhibió significativamente la respuesta de contractura al cloruro de potasio exógeno. En contraste, en preparaciones de nervio-musculo de ratones, el veneno de *L. annulata* no presenta un bloqueo neuromuscular significativo. Sin embargo, induce una despolarización menor de la membrana muscular sin afectar los receptores postsinápticos [33]. Estos efectos neuromusculares observados son el resultado de una actividad proteolítica inespecífica del veneno más que de un mecanismo neurotóxico. Por otro lado, el veneno de *L. annulata* causó alteraciones histológicas expresivas en modelos experimentales de ave y ratón, incluyendo fibras hinchadas y necrosis. Estos efectos parecen estar relacionados con la alta actividad proteolítica y la leve actividad PLA_2 ejercida por el veneno [33].

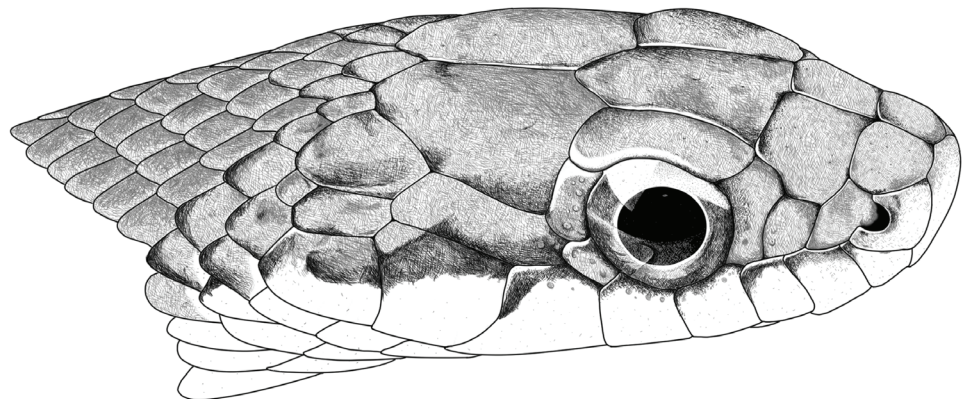
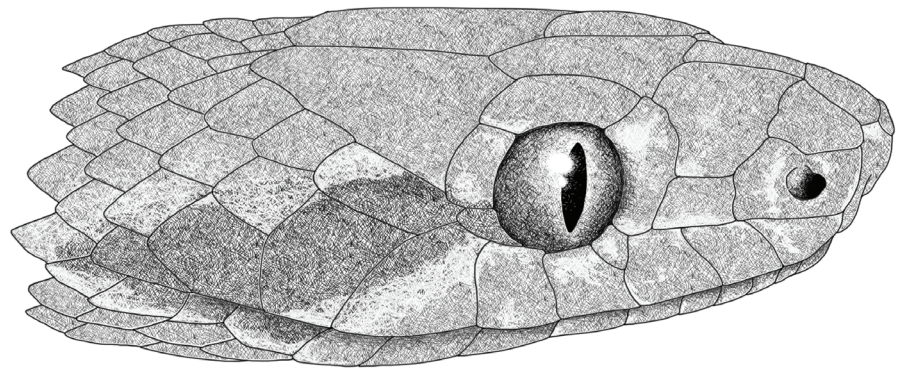


Figura 4. Ilustraciones de la cabeza del complejo de especies *Leptodeira annulata* y *Leptophis ahaetulla*. (Arriba) Cabeza en vista lateral de *Leptodeira annulata* de Pacurita, Quibdó, Chocó, Colombia (JDL 31754). (Abajo) Cabeza en vista lateral de *Leptophis ahaetulla* from Caño Cristales, Riosucio, Chocó, Colombia (IAvH-R1458). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Género *Leptophis*.— Entre las especies de *Leptophis* que habitan en Colombia, solo *Leptophis ahaetulla* tiene estudios sobre su veneno. Aunque es un género común en su rango de distribución, hay pocos estudios sobre la composición o función de su veneno en las poblaciones colombianas (Figura 4). Rodríguez-González y Portillo-Portillo [110] realizaron el primer trabajo explorando la capacidad tóxica del veneno de *L. ahaetulla*. Ellos evaluaron el efecto neurotóxico del veneno de esta especie en el

nervio ciático de la rana *Rhinella horribilis*. Sin embargo, el veneno no alteró el potencial de acción del nervio, y los autores hipotetizaron que tenía una función biológica menor.

Recientemente, Sánchez et al. [30] realizaron una caracterización funcional y composicional del veneno de una población argentina de *L. ahaetulla*, revelando un perfil composicional dominado por pequeñas proteínas (<10,0-30,0 kDa) identificadas como CTLs, CRISPs y 3FTxs. En consecuencia, las actividades proteolíticas y miotóxicas del veneno de *L. ahaetulla* fueron prácticamente nulas, ya que no se identificó ninguna proteína enzimática como un componente importante del veneno. Además, las pruebas de letalidad en ratones no mostraron signos de efectos letales en dosis tan altas como 20 µg/g, aunque esto podría explicarse a la toxicidad específica hacia presas propias de su dieta (ranas y lagartijas), como se ha observado en otros colúbridos con venenos neurotóxicos [60,63,110]. Sin embargo, aún no se han realizado estudios sobre la caracterización funcional y composicional del veneno de *L. ahaetulla* en poblaciones colombianas.

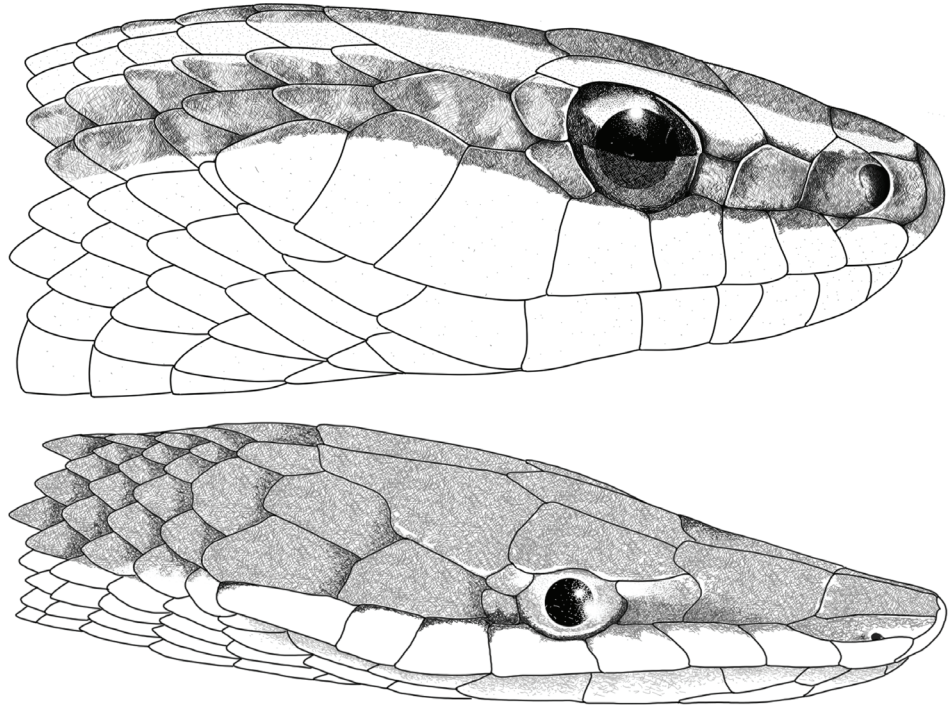
Género *Lygophis*.— No hay mucha información sobre la composición y función del veneno de las serpientes del género *Lygophis*. Recientemente, un estudio analizó el transcriptoma de la glándula de veneno de *L. flavifrenatus* de Brasil encontró que su veneno muestra un perfil altamente proteolítico, siguiendo la tendencia observada en otros géneros cercanamente relacionados (p. ej., *Erythrolamprus*), con svMMPs como el principal tipo de enzimas proteolíticas entre otros componentes menores del veneno [42].

Género *Oxybelis*.— Se han reportado algunos accidentes con humanos que involucran especies de *Oxybelis* a lo largo de su distribución conocida [112–114]. Generalmente, el envenenamiento causado por especies del género *Oxybelis* presentan síntomas locales como dolor, eritema y hemorragia, raramente acompañados de taquicardia y mareos.

En cuanto a su veneno, en las últimas décadas se han publicado algunas investigaciones interesantes. El veneno de la serpiente bejuquilla verde (*O. fulgidus*) parece ser composicionalmente simple, con proteínas del veneno dentro de los rangos de tamaño de 6-9 kDa, 25 kDa y 50-66 kDa, destacando la presencia de 3FTx [111]. Además, se purificó y caracterizó una neurotoxina de este veneno, que es el componente más abundante. La fulgimotoxina es una 3FTx con una toxicidad letal muy alta hacia lagartos nativos (p. ej., siendo más sensibles en especies del género *Anolis* que especies de gekos del género *Hemidactylus*) y pocos o ningún efecto en mamíferos (ratones) [111].

Recientemente, se describió el proteoma del veneno de *Oxybelis aeneus* and *O. fulgidus*. Los proteomas del veneno mostraron una baja complejidad composicional con cuatro familias de proteínas detectadas (LAAO, SVMPs P-III, CRISP y 3FTx) [60]. En términos generales, ambos venenos son altamente neurotóxicos con actividad letal en lagartos, baja actividad proteolítica y carecen de actividad fibrinogenolítica [60].

Figura 5. Ilustraciones de la cabeza de *Lygophis lineatus* y *Oxybelis aeneus*. (Arriba) Vista lateral de la cabeza de *Lygophis lineatus* de la Universidad Nacional de Colombia sede de La Paz, La Paz, Cesar, Colombia (TAS 2576). (Abajo) Vista lateral de la cabeza de *Oxybelis aeneus* de Riosucio, Chocó, Colombia (IAvH-R1458). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.



Género *Oxyrhopus*.— Desafortunadamente, no hay mucha información disponible sobre la composición o función del veneno de este grupo de serpientes. Sin embargo, los pocos datos que existen sugieren que los venenos de las especies de *Oxyrhopus* están dominados por SVMPs, CRISPs y CTLs, siguiendo la misma tendencia observada en la mayoría de las Dipsadinae [11]. No obstante, otros componentes del veneno incluyen PLA₂s-IIIE, que son de especial interés porque representan una clase de PLA₂ diferente a la que se encuentra en víboras y elápidos, siendo quizás un nuevo evento de reclutamiento de toxinas en el arsenal de la glándula de veneno de este grupo de serpientes [11,73].

Género *Philodryas*.— Entre los colúbridos que pueden causar casos de envenenamiento en Suramérica, las especies de *Philodryas* son responsables de la mayoría de los casos reportados [17,84,115–118]. Por lo tanto, son las serpientes colúbridas con la mayor cantidad de datos relacionados con venenos en comparación con otros géneros de colúbridos [54,119,120]. Particularmente, debido a la extensa distribución de *Philodryas olfersii*, su veneno ha sido ampliamente estudiado. Este veneno es altamente proteolítico, produce edema, hemorragia y mionecrosis en modelos animales [121–124]. Algunos componentes del veneno han sido purificados: una miotoxina [125], cuatro metaloproteinasas y una serina proteasa [126]. La caracterización e identificación de estos componentes del veneno concuerda con los análisis proteómicos y transcriptómicos realizados en el veneno de esta especie [54,127]. Funcionalmente, el veneno de *P. olfersii* degrada fibrinógeno y fibrina, y carece de actividad similar a la trombina, efectos inhibitorios de la agregación plaquetaria [123]. El veneno tampoco produce alteraciones hematológicas, teniendo efectos

limitados sobre las concentraciones de citocinas circulantes [128]. Aunque se observan diferentes efectos *in vivo* utilizando modelos murinos, las principales manifestaciones en el envenenamiento humano son efectos locales como dolor, edema, eritema y equimosis [85]. Actualmente, no se han reportado casos de envenenamiento por especies del género *Philodryas* en Colombia.

Género *Rhinobothryum*.— Los encuentros en campo con estas especies son generalmente escasos, por lo tanto, los venenos de *Rhinobothryum* son poco conocidos. Recientemente, un estudio con *R. bovallii* reveló que posee un veneno neurotóxico, como se observa en otros géneros de la subfamilia *Colubrinae* (p. ej., *Spilotes*, *Leptophis* y *Oxybelis*) [55]. Los análisis proteómicos revelaron un perfil composicional bastante simple, dominado por CRISPs neurotóxicos (8,2%) y 3FTxs (86,5%) con una pequeña proporción de SVMs proteolíticas (2,4%). Se han reportado repetidamente neurotoxinas específicas de taxones en venenos de colúbridos con dietas especializadas, principalmente enfocadas en aves y/o lagartos. Sin embargo, las especies de *Rhinobothryum* tienen una dieta muy diversa, por lo que se necesitan estudios funcionales que busquen descubrir la especificidad de sus neurotoxinas para obtener una mejor comprensión de su evolución, así como de la resistencia al veneno en sus presas. Actualmente, no se han reportado casos de envenenamiento por especies de *Rhinobothryum* en Colombia.

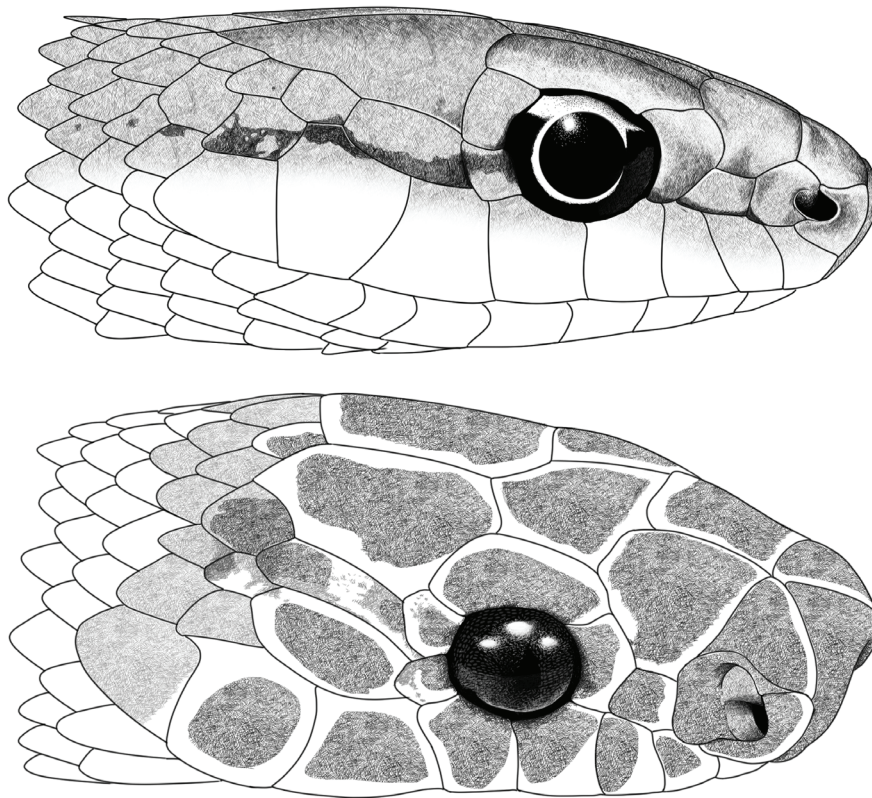


Figura 6. Ilustraciones de la cabeza de *Philodryas olfersii* y *Rhinobothryum bovallii*. (Arriba) vista lateral de la cabeza de *Philodryas olfersii* de Puerto Rondón, Arauca, Colombia (IAvH-R2878). (Abajo) Vista lateral de la cabeza de *Rhinobothryum bovallii* de Pedernales, Manabí, Ecuador (QCAZR-R5757). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Pseudoboa neuwiedii.— El veneno de *P. neuwiedii* de poblaciones localizadas en el departamento del Tolima, Colombia, fue caracterizado bioquímicamente por Torres-Bonilla et al. [129]. Estos autores reportan su perfil SDS-PAGE y la identificación de sus componentes por LC-MS/MS. El veneno de esta especie muestra bandas proteicas que van desde ~15 kDa a ~200 kDa, con las bandas más conspicuas entre ~50-75 kDa y ~20-25 kDa. Estas bandas fueron identificadas como SVMPS y CRISPs, asemejándose al patrón de composición reportado en otras especies estrechamente relacionadas a nivel transcriptómico [11]. Entre los componentes identificados, las bandas menos conspicuas fueron CTLs, PLA₂s, en contraste con las bandas notablemente conspicuas de svMMPs, una familia de proteinasas poco estudiada y recientemente reportada como un componente principal de los venenos de algunos dipsáridos [129].

Además, el veneno de *P. neuwiedii* produce un bloqueo neuromuscular moderado (50% de bloqueo después de ~80 min), con una reducción significativa de las respuestas de contractura al cloruro de potasio exógeno y la acetilcolina después de 120 min de incubación. El veneno causó extensas alteraciones histopatológicas en preparaciones musculares. Las fibras musculares perdieron su perfil poligonal normal y típico con fibras hinchadas o vacuoladas que conducen a una falla en la regulación de la permeabilidad. Los efectos neuromusculares observados son el resultado de una actividad proteolítica general, en lugar de un mecanismo neurotóxico [56]. El veneno de *P. neuwiedii* es altamente proteolítico hacia la azocaseína con una temperatura óptima de 37 °C, pH 8.0, extremadamente activo en gelatina, y mostró una actividad moderada de PLA₂. El veneno también degrada la cadena Aα del fibrinógeno *in vitro*; carece de actividad coagulante, pero retrasa el tiempo de coagulación durante la recalcificación plasmática [129].

Género *Spilotes*.— Actualmente, no existen reportes de casos de envenenamiento ni de propiedades caracterizadas del veneno de las especies de este género para Colombia. Sin embargo, hay investigaciones recientes que abordan la evolución del veneno *Spilotes sulphureus*. El veneno de *S. sulphureus* fue analizado combinando ensayos con presas específicas de expresión génica del veneno y del fenotipo del veneno [63]. Se identificaron dos neurotoxinas nuevas (3FTx): sulditoxina y sulmotoxina 1, las cuales son las proteínas más abundantes del veneno y expresan toxicidades específicas según el tipo de presa. La sulditoxina es altamente tóxica para lagartijas y no es tóxica para mamíferos, mientras que la sulmotoxina 1 exhibe la tendencia opuesta [63]. Este es también el primer caso en el que se muestra un patrón bimodal y opuesto de toxicidad de toxinas para un veneno en relación con la dieta [63].

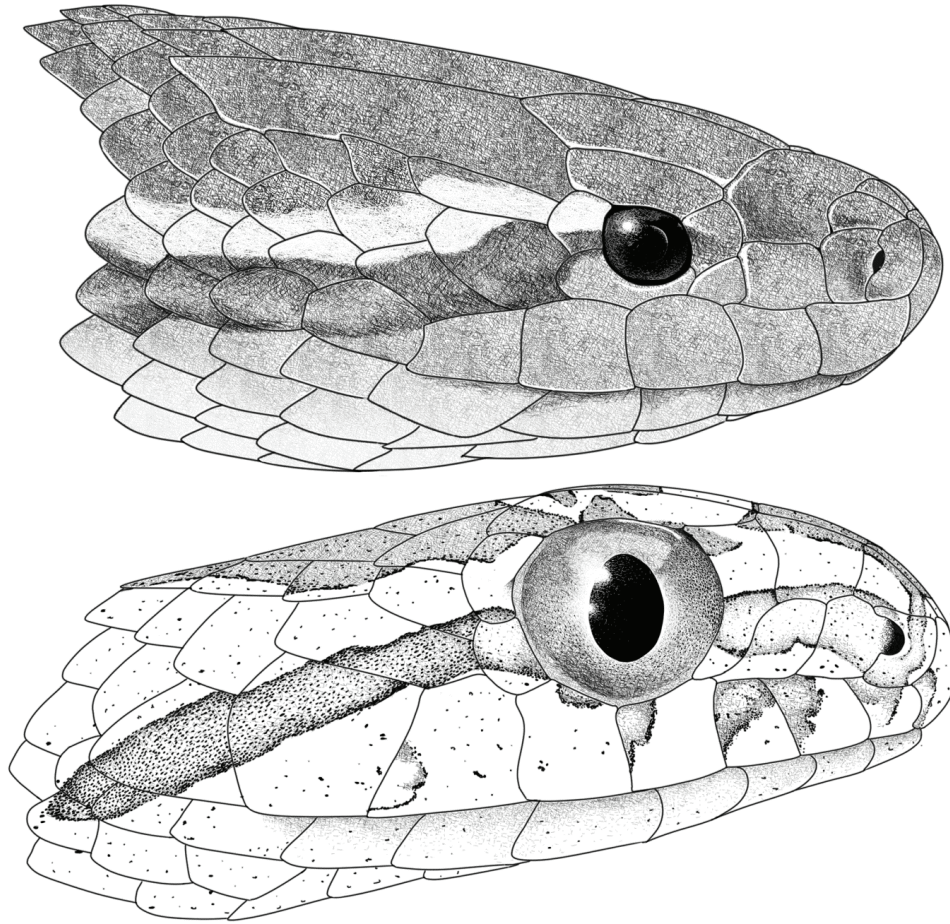


Figura 7. Ilustraciones de la cabeza de *Tretanorhinus nigroluteus* y *Thamnodynastes dixonii*. (Arriba) Vista lateral de la cabeza de *Tretanorhinus nigroluteus* de la vereda Cacarica, Riosucio, Chocó, Colombia (IAvH-R 2002). (Abajo) Vista lateral de la cabeza de *Thamnodynastes dixonii* de Puerto Carreño, Vichada, Colombia (JDL 31383). Ilustraciones por Oscar A. Ramírez Ruiz.

Género *Tantilla*.— A pesar de la enorme riqueza de especies dentro del género *Tantilla*, solo *T. nigriceps*, una especie distribuida en el sur de Norteamérica, tiene estudios de su veneno. Estos destacan que el género posee un veneno altamente neurotóxico. Sin embargo, su pequeño tamaño y reducida producción de veneno lo hace inocuo para los humanos [37,38]. El transcriptoma de la glándula de veneno de *T. nigriceps* estaba dominado por 3FTxs neurotóxicas (54%) y CRISPs (24%), con proporciones más pequeñas de SVMPS (18%) y CTLs (3%) [52]. La dieta altamente especializada de las especies del género *Tantilla* haría de sus neurotoxinas un modelo idóneo para estudiar la especificidad y evolución de las toxinas.

Género *Thamnodynastes*.— Las especies de serpientes del género *Thamnodynastes* son conocidas por ocasionar envenenamientos con un cuadro clínico que generalmente incluyen síntomas como edema, dolor irradiado, equimosis y hemorragia [46,130,131]. Sin embargo, no había información disponible relacionada con el veneno hasta 2012, cuando Ching et al. [132] publicaron la caracterización proteómica y transcriptómica del veneno de *T. strigatus*. Sus hallazgos revelaron que un nuevo tipo de metaloproteinasas, llamadas svMMP, eran las de toxinas dominante tanto en el proteoma del veneno como en el transcriptoma de la glándula del veneno. Las svMMP representaban el 46% de todo el transcriptoma y el 76% de todas las toxinas

registradas, incluyendo SVMP, CTL, 3FTx, CRISP y otras toxinas menores. Recientemente, un nuevo análisis transcriptómico que incluyó más especies confirmó el predominio de las svMMP en el veneno de este género y mostró que mantienen un perfil altamente proteolítico [42].

Género *Tretanorhinus*.— Debido a la escasez de muestras e información disponible para este género, no se ha realizado un solo estudio sobre la composición del veneno de ninguna de las dos especies colombianas. Sin embargo, se ha analizado el transcriptoma de la glándula de Harder de una culebra de pantano cubana (*T. variabilis*). Esta glándula está ubicada detrás del ojo de la serpiente y es proximal a la glándula de Duvernoy. Se hipotetiza que está estrechamente relacionada con la glándula lagrimal, ayudando en la lubricación del ojo, pero también se ha propuesto que cumple otras funciones [67,68,133]. Estas funciones hipotéticas incluyen actuar como una glándula salival accesoria que puede secretar enzimas digestivas o proporcionar una fuente de lubricación. En *T. variabilis*, el perfil de expresión de la glándula de Harder reveló una serie de toxinas putativas, incluidas las SVMP P-III, las CTL y las CRISP, tres de las principales toxinas descritas en otros colúbridos [57]. Estos hallazgos indican que la producción de proteínas similares a toxinas no se limita a la glándula de Duvernoy de los colúbridos, pero no está claro si estas otras glándulas que producen toxinas putativas representan una ventaja trófica.

3. Epidemiología y manifestaciones clínicas

Los estudios epidemiológicos en todo el mundo han subvalorado el envenenamiento por especies de colúbridos [10,11,35,46,84]. Esto podría estar relacionado con la menor cantidad de mordeduras que involucran colúbridos o la falta de reportes de las mismas, así como con las manifestaciones clínicas relativamente leves causadas por sus venenos [35,44,46,48,51,85,86]. Sin embargo, estos efectos leves pueden provocar la inmovilización parcial o total de las extremidades afectadas, lo que provoca una posible pérdida de la capacidad de trabajo para la víctima (por lo general, un agricultor o un trabajador del campo) [17,36,43,47,50,85].

En Colombia, la incidencia y los registros epidemiológicos de la mordedura de serpiente como métrica de salud pública son proporcionados por el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA; ver Capítulo 9). El SIVIGILA publica informes anuales con el número total de casos de mordeduras de serpientes que incluyen una gran cantidad de datos que proveen información sobre la identificación de la serpiente involucrada en el accidente. Sin embargo, el proceso de recopilación y análisis de datos involucra la ardua revisión de formularios escritos a mano llenados por médicos de todo el país con diversos grados de información taxonómica disponible. Generalmente, esta complicación captura de forma adecuada la identidad taxonómica de las serpientes que típicamente causan los accidentes ofídicos (p. ej., los géneros *Bothrops*, *Crotalus* y *Micrurus*). Sin embargo, aún existe un sesgo difícil de superar para la mayoría de las especies de colúbridos que generalmente tienen varios nombres comunes que cambian entre diferentes regiones, y abarcan la mayoría de la diversidad de serpientes del país [8,10].

Por lo tanto, la cantidad de serpientes identificadas de forma ambigua o indeterminadas que se informan en esos reportes es generalmente alta, con ~11.280 de los ~49.143 casos entre 2010 y 2020 (~20 % del total de casos). Es probable que esto aumente el sesgo de identificación ya existente que sufren los envenenamientos por colúbridos, ampliando la brecha de relevancia médica entre las serpientes con colmillos delanteros y traseros [10,11].

Afortunadamente, desde 2012, el Instituto Nacional de Salud (INS) realiza campañas para educar sobre la prevención y el manejo de incidentes de mordeduras de serpientes, ayudando a los profesionales médicos a comprender mejor la identificación de serpientes. El impacto positivo de estas iniciativas queda claro al analizar el promedio acumulado de mordeduras de serpientes anuales clasificadas como «indeterminada» en el país (Figura 8).

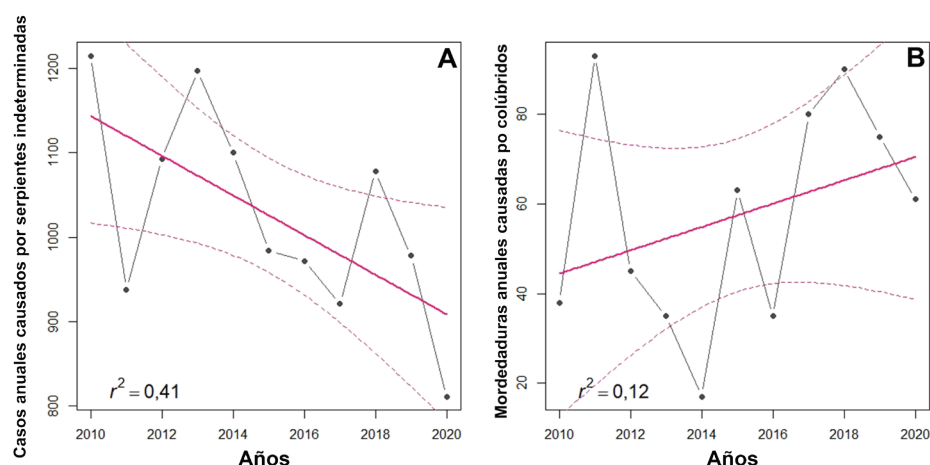


Figura 8. Modelos de regresión lineal. (A) Promedio anual acumulado de mordeduras de serpientes clasificadas como «indeterminadas». (B) Promedio anual acumulado de mordeduras de serpientes clasificadas como colúbridos. Estimaciones basadas en el reporte del SIVIGILA (2010-2020). Las líneas grises y los puntos representan la variación anual de los casos de mordeduras de serpientes. La línea rosa continua representa el mejor ajuste del modelo de regresión lineal y las líneas rosa discontinuas muestran el intervalo de confianza del 95 % para el modelo. Los valores de r^2 se muestran en la parte inferior izquierda de cada gráfico.

El número de casos indeterminados muestra una tendencia decreciente en durante el periodo 2010-2020 ($F = 6,15$; $p = 0,035$). Por lo tanto, podríamos esperar un aumento en el número de mordeduras de colúbridos identificadas que antes se consideraban como casos indeterminados. Al analizar las ocurrencias anuales de mordeduras de colúbridos observamos una tendencia creciente. Sin embargo, esta tendencia no es significativa debido a la heterogeneidad de los datos ($F = 1,19$, $p = 0,30$). A pesar de esto, a medida que disminuye el número de casos indeterminados, esperamos ver un aumento en el número de mordeduras de serpientes reportadas que involucran a especies de colúbridos.

Actualmente, hay en promedio 30 casos anuales confirmados de mordeduras de serpientes causadas por especies pertenecientes a las familias Colubridae o Boidae en la base de datos de SIVIGILA (~541 y ~91 respectivamente de 2010-2020). Estos casos tienen un perfil bastante consistente de manifestaciones clínicas (Figura 9). Los cuadros clínicos comúnmente reportados presentan como síntomas locales dolor, edema, eritema; y síntomas sistémicos como parestesia y malestar general.

Además, al comparar estas ocurrencias con el perfil clínico de los casos indeterminados, vemos un perfil similar que podría estar relacionado con la alta proporción de casos relacionados con colúbridos que se etiquetan como indeterminados.

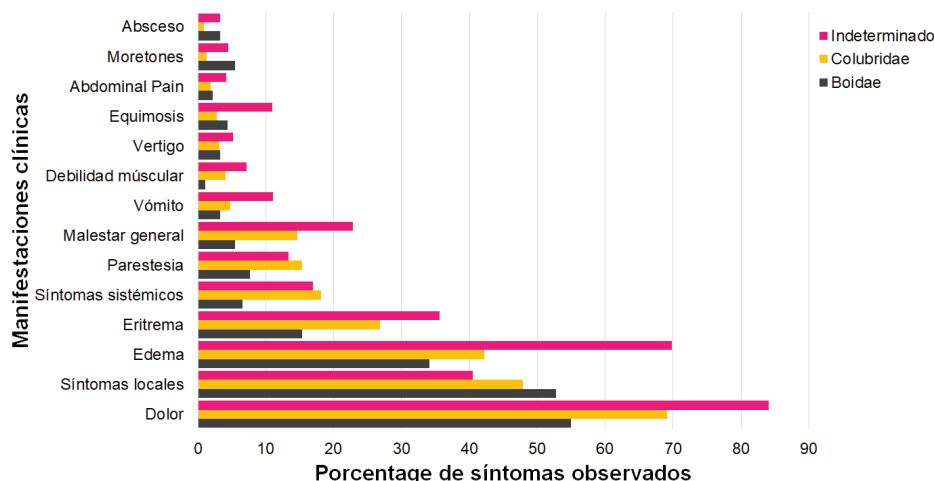


Figura 9. Manifestaciones clínicas reportadas en el SIVIGILA para Boidae, Colubridae y casos indeterminados de mordedura de serpiente en Colombia entre 2010 y 2020.

Curiosamente, la base de datos SIVIGILA reporta la aplicación de anti-veneno en algunos casos causados por especies de Colubridae o Boidae (~159 y ~19 respectivamente). Esto es problemático ya que se sabe que las reacciones alérgicas al antiveneno polivalente causan complicaciones médicas [87]. Por lo tanto, la identificación correcta y precisa de la especie que provocó el accidente, es una etapa crucial para garantizar la seguridad del paciente. Incrementar el porcentaje de identificación correcta de especies de serpientes sin colmillos frontales es clave para obtener un panorama completo de la verdadera relevancia epidemiológica de las mordeduras de serpientes en el país.

En general, el manejo de la incidencia de mordeduras de serpientes en Colombia ha mejorado en la última década, aunque persisten algunos desafíos. Existe una necesidad urgente de aumentar el porcentaje de identificación precisa de la identidad taxonómica de las serpientes involucradas en el accidente; se requiere implementar un sistema más eficiente para recopilar y organizar toda la información clínica de cada caso de mordedura. Además, los colúbridos y otros grupos de serpientes sin colmillos frontales deben recibir una mayor relevancia en los estudios y cursos clínicos para disminuir el número de incidentes de mordeduras de serpientes indeterminadas y garantizar que cada caso de mordedura de serpiente se trate correctamente.

4. El potencial biológico sin explotar de los «colúbridos»

Históricamente, los venenos de serpiente han sido una fuente de nuevos tipos de proteínas con funciones evolutivamente intrigantes y farmacológicamente aplicables [86–88] (ver Capítulo 10). Sin embargo, como se discutió anteriormente, gran parte de las investigaciones sobre la diversi-

dad de venenos se ha centrado en víboras y elápidos, dejando de lado a la mayoría de las especies productoras de veneno [11,39]. Afortunadamente, en los últimos años, ha habido avances trascendentes en nuestro conocimiento sobre la composición del veneno de los colúbridos, revelando una diversidad de toxinas de magnitud similar a la de las serpientes con colmillos frontales [11,42,73]. En esta sección presentaremos las principales aplicaciones directas e indirectas de los venenos de colúbridos, ejemplificando por qué representan un modelo biológico interesante tanto para estudios evolutivos como farmacológicos.

4.1 Los venenos de colúbridos como herramienta para comprender los procesos evolutivos

El veneno de serpiente es una adaptación trófica que está directamente relacionada con la capacidad de caza y alimentación efectiva, ya que el veneno ayuda a paralizar y matar a las presas [63]. Por lo tanto, la composición y función del veneno están bajo una fuerte presión selectiva y solo pueden variar entre estrechos umbrales óptimos [91]. Además, los genes que controlan las toxinas generalmente se reclutan en la glándula venenosa a través de un proceso conocido como duplicación génica, el cual permite una rápida diversificación haplotipos a medida que las nuevas copias de genes escapan de las restricciones selectivas y tienen la libertad de mutar [42,79,83,92].

Por lo tanto, las toxinas del veneno de serpiente muestran un amplio espectro de diversas funciones y dianas moleculares contenidos dentro de unos pocos tipos de estructura conservadas [62,76,77,91,93]. Estas peculiaridades los han convertido en modelos interesantes para estudiar la convergencia fenotípica, el reclutamiento y la cooptación de genes, las relaciones depredador-presa y muchos otros fenómenos evolutivos [29,42,76,83,93].

Los venenos de serpiente están dominados por un número relativamente pequeño de familias de proteínas, siendo las SVMP, PLA₂, 3FTx y SVSP las principales familias que componen los perfiles de composición óptimos. Sin embargo, los estudios en torno a la composición de los venenos cuentan con muy pocos datos de especies de colúbridos [11,91]. Sin embargo, los escasos venenos de colúbridos que se han estudiado a fondo han revelado la aparición de nuevos tipos de toxinas que probablemente representen eventos de reclutamiento génico exclusivos de este grupo de serpientes [42].

Estudios recientes de venenos de colúbridos han detectado la aparición, convergencia fenotípica y el reclutamiento de nuevas familias de genes en su repertorio de venenos. Por ejemplo, hace poco se descubrió que las metaloproteinasas de la matriz del veneno de serpiente (svMMP) son una clase de toxina importante en tres tribus de la subfamilia Dipsadinae, reemplazando a las SVMP como las principales toxinas proteolíticas en Xenodontini, Tachymenini y Conophiini [42]. Esta clase de toxina fue reclutada de forma independiente en cada una de las tribus y represen-

ta un curioso evento de convergencia entre ellas. Además, estas toxinas proteolíticas recientemente descubiertas evolucionaron hacia estructuras simplificadas que se asemejan a las SVMP de las víboras, y se cree que poseen capacidades proteolíticas similares [42,56,76,77,94] (ver Capítulo 5). Los ejemplos de retención de un rasgo fenotípico reclutando nuevos genes en un tejido son escasos [42,83], pero los venenos de serpiente, como un rasgo multifactorial determinado por múltiples proteínas con funciones superpuestas y sinérgicas, componen un modelo ideal para estudiar estos complejos eventos evolutivos.

Como una adaptación trófica, los venenos de serpiente son una herramienta útil para comprender las relaciones depredador-presa, así como las adaptaciones de las especies en entornos cambiantes. Esto es especialmente cierto para las hipótesis evolutivas como la hipótesis de «La reina roja» propuesta por Leigh Van Valen, en la que el depredador y la presa están en una carrera armamentista constante para superarse [95,96]. En este ejemplo, las serpientes venenosas desarrollarían toxinas más específicas y potentes hacia sus presas, mientras que sus presas desarrollarían mecanismos de resistencia o comportamientos específicos para evitar ser depredadas.

Existen varios ejemplos de resistencia/especificidad de toxinas para venenos de serpientes con colmillos frontales, que involucran toxinas proteolíticas y neurotóxicas. Los mecanismos de resistencia al veneno generalmente están mediados por factores séricos circulantes o por cambios adaptativos en las moléculas diana del veneno [97-99]. Un ejemplo clásico de los factores séricos circulantes son los homólogos de la glicoproteína $\alpha 1B$ que se encuentran en las mangostas y las zarigüeyas que inhiben las SVMP o PLA₂ miotóxicas [98].

La resistencia a las toxinas neurotóxicas generalmente implica modificaciones de residuos en los receptores nicotínicos colinérgicos musculares (nAChR) que son el objetivo de las α -neurotoxinas. Estos mecanismos se han estudiado principalmente en serpientes con colmillos frontales, lo que transforma a los colúbridos en un modelo novedoso y sobresaliente para explorar la resistencia y la especificidad de las toxinas [99].

Ya se ha demostrado que varias especies de colúbridos poseen venenos con neurotoxinas altamente específicas que exhiben una potencia variable hacia diferentes presas [29,55]. Sin embargo, estos estudios solo se han realizado en un número limitado de géneros y las implicaciones evolutivas de la especificidad/resistencia al veneno de los colúbridos aún no se han revelado.

En general, los venenos de colúbridos representan una fuente interesante para buscar nuevos tipos de proteínas y estudiar procesos evolutivos que son poco conocidos. Se necesita una mayor cantidad de datos relacionados con el veneno para comprender verdaderamente los mecanismos que dan forma a la composición, función y evolución del veneno en este grupo de serpientes extremadamente diverso.

4.2 Venenos de colúbridos y aplicaciones farmacológicas

La investigación actual que se centra en los venenos de las serpientes opistoglifas aún es incipiente en comparación con la cantidad de trabajos que describen la composición y la diversidad biológica de los venenos de serpientes con colmillos delanteros (ver Capítulos 5 y 10). Por lo tanto, la cantidad de toxinas completamente caracterizadas de venenos de colúbridos es muy baja [11]. La transición desde el descubrimiento/caracterización de la toxina hasta el desarrollo de un posible agente terapéutico es un proceso muy complejo [88,90]. Históricamente, el estudio de los venenos ha representado una fuente significativa de proteínas y péptidos con un notable potencial de aplicación en diversos campos biomédicos y farmacológicos (ver Capítulo 10). Por lo tanto, hay varios compuestos terapéuticos en circulación y/o en ensayos clínicos utilizados en humanos que se han diseñado y desarrollado con éxito a partir de venenos de animales [88,90,100-102].

Teniendo en cuenta que los venenos de serpientes con colmillos traseros contienen una gran cantidad de proteínas y péptidos diferentes con actividades biológicas complejas y potentes que se asemejan a las que se encuentran en víboras y elápidos, éstos representan una nueva fuente de moléculas potencialmente bioactivas [28,37,39-41]. La implementación de nuevos métodos de extracción, la mejora de los ensayos metodológicos y el creciente interés en estos venenos han resultado en una mejor comprensión de sus moléculas y las actividades biológicas complejas, únicas y nuevas que poseen [11,40,103].

La enorme diversidad taxonómica de los colúbridos ha dado como resultado una gran variedad de perfiles de composición y funcionalidad del veneno, como se describió anteriormente en este capítulo. Todos estos factores establecen un enorme potencial para el descubrimiento de nuevas familias de proteínas o efectos biológicos mejorados de algunos compuestos en términos de potencia o eficacia, siendo modelos promisorios para el diseño y desarrollo de nuevos fármacos [10,40,103].

La investigación sobre los venenos de serpientes con colmillos traseros ha revelado una variedad compleja de actividades biológicas y patrones de composición. Sin embargo, las actividades más ubicuas y comúnmente estudiadas en los venenos de colúbridos son la actividad proteolítica que provoca hemorragia y trastornos de la coagulación, y las actividades miotóxicas y edematogénicas que se asemejan a los efectos observados en los venenos de *Bothrops* [32-34,42,53]. Además, algunas familias de proteínas como las SVMP y PLA₂ encontradas en venenos de colúbridos muestran diferentes potencias tóxicas y enzimáticas en comparación con las encontradas en especies de vipéridos [32,34]. Estas diferencias funcionales, así como las toxicidades específicas de las presas, podrían ser enfoques interesantes para futuras investigaciones en busca de compuestos con potencial terapéutico [33,56].

La presencia de estructuras conservadas en toxinas comunes, como las proteínas CRISP, ampliamente distribuidas entre las serpientes vene-

nosos, junto con proteínas no enzimáticas que exhiben múltiples actividades farmacológicas, otorga a los venenos de los colúbridos un conjunto de propiedades biológicas diversas y, en muchos casos, aún no caracterizadas, lo que los posiciona como un área de investigación prometedora para su estudio y exploración científica [11,32,37,39]. Un buen ejemplo de esto es la patagonina, una CRISP aislada del veneno de *Philodryas patagoniensis* que muestra actividad antibacteriana en concentraciones muy bajas sin signos de actividad citotóxica [104,105].

Otro hallazgo muy interesante que resalta la investigación sobre los venenos de colúbridos como una gran fuente de descubrimientos potenciales es la presencia de toxinas únicas y putativas en estos venenos [11,32,33,42]. La presencia de estas familias de proteínas únicas proporciona diferentes enfoques de investigación para descubrir el papel y las actividades biológicas de estas toxinas, como posibles nuevos mecanismos fisiológicos, dianas farmacológicas con potencial terapéutico.

Por otro lado, la diversidad de hábitats, dietas y comportamientos encontrados en los colúbridos colombianos podría traducirse en la presencia de toxinas con estructuras drásticamente diferentes a las de los venenos de elápidos y vipéridos. Sin embargo, la falta de datos relacionados con el veneno ha dificultado el avance de los estudios que revelan las aplicaciones farmacológicas y funcionales de los venenos de colúbridos. El avance y desarrollo de nuevos métodos y herramientas para la investigación de estos venenos representa una gran oportunidad para comprender mejor las implicaciones biológicas de estas toxinas y proporcionar información valiosa para posibles futuros descubrimientos de fármacos novedosos.

5. La perspectiva colombiana

Durante las últimas décadas ha florecido un interés por la investigación centrada en los venenos y los casos de envenenamiento por colúbridos. La implementación de nuevos métodos de extracción de veneno, incluidos protocolos manuales y farmacológicos, ha dado como resultado mayores rendimientos de veneno. Esto ha facilitado el desarrollo de mejores metodologías transcriptómicas y proteómicas que aumentan nuestra comprensión sobre la composición y propiedades biológicas de las toxinas de colúbridos utilizando pequeñas cantidades de veneno [11,37–40].

El conocimiento sobre estos venenos obtenido durante los últimos años y la conciencia de los peligros potenciales que representan algunas especies de colúbridos en todo el mundo ha llevado a la implementación de diferentes estrategias para registrar y controlar los casos de envenenamiento que ocurren con estas especies [134,135]. Estas estrategias se enfocan en involucrar a las comunidades para aumentar su conciencia ambiental, asegurar la disponibilidad de tratamientos médicos eficientes y específicos, fortalecer el sistema de salud y establecer alianzas interdisciplinarias entre los sectores público y privado. En muchos países, se

alienta a las instituciones a desarrollar medidas de seguridad para manejar los accidentes que involucren a estas especies, y de esta manera, lograr una identificación taxonómica más rápida y precisa en eventuales casos de envenenamiento [135]. En Brasil, por ejemplo, las mordeduras de colúbridos representan un problema de salud colectivo con muchos casos reportados por año, lo que ha conllevado un mayor grado de conciencia de que algunas serpientes, antes consideradas inofensivas, podrían ser de importancia médica [35,45,49].

En Colombia existen alrededor de ~340 especies de serpientes y el 18% (~20 vipéridos y ~29 elápidos) representan especies de interés médico [8,136,137]. La familia Colubridae contiene la mayoría de las especies de serpientes que se encuentran en el país (~270 especies) y muchas de estas poseen una dentición opistoglifa (dientes maxilares posteriores acanalados agrandados) conectados a la glándula venenosa de Duvernoy que las convierte en un peligro potencial para los humanos [17,36].

Sin embargo, este grupo de serpientes no cuenta con el interés médico ni epidemiológico en Colombia. La falta de capacidad para identificar estas especies por parte de la comunidad en general y el personal médico, así como las deficiencias en el sistema de vigilancia, son las principales limitaciones que enfrentan las mordeduras de serpientes causadas por colúbridos [10]. Una mejor vigilancia y comprensión de estos casos conduciría a mejorar el tratamiento de los pacientes, y evitaría algunas prácticas inadecuadas o innecesarias como la aplicación de antiofídicos desarrollados para atender los accidentes botrópicos o elapídicos en pacientes mordidos por colúbridos.

Debido al bajo interés médico por estas especies y sus venenos, también existe una gran brecha de conocimiento y una falta de información sobre las propiedades biológicas y de composición de los venenos de las especies de colúbridos colombianos [33,56]. La relevancia de la investigación toxinológica de este grupo radica en la gran diversidad de nuevas proteínas/toxinas familiares y funciones biológicas que también representan una gran fuente de recursos para la bioprospección y los enfoques evolutivos/filogenéticos [32,34].

Es necesario incluir a estas especies en los programas de ofidismo en Colombia. También deben incluirse en las estrategias de vigilancia epidemiológica. Esto conducirá al establecimiento de medidas y protocolos de seguridad para el mantenimiento de colúbridos en cautiverio y a un mejor sistema de notificación y registro de accidentes que incluyan a estas especies. Junto con estos datos, los estudios epidemiológicos regionales de estos accidentes ayudarían a identificar las comunidades más afectadas y la implementación de programas educativos que aumenten la conciencia médica sobre estas especies. Finalmente, estos enfoques darán como resultado un mayor interés de los grupos de investigación por abordar estos venenos y llevar a cabo proyectos interdisciplinarios para comprender la composición, evolución y mecanismos de acción de estos.

Apéndice A: Material y Métodos

Los métodos de búsqueda para identificar investigaciones relacionadas con los venenos de los colúbridos se basaron en búsquedas semanales de enero de 2022 a junio de 2024. Las búsquedas se realizaron de la siguiente manera:

1. Búsquedas semanales de Google Scholar
2. Búsquedas semanales de Scielo;
3. Búsquedas semanales de Scopus.

Las estrategias de búsqueda contenían las siguientes palabras clave y se combinaron de diferentes formas utilizando los conectores booleanos AND y OR: snake venoms, colubrid, Colubridae, Dipsadidae, *Xenodon*, *Lep-tophis*, *Erythrolamprus*, *Oxybelis*, *Helicops*, *Thamnodynastes*, *Leptodeira*, *Philodryas*, *Pseudoboa*, *Tantilla*, *Spilotes*, *Rhinobothryum*, *Tretanorhinus*, *Oxyrhopus*, *Lygophis*, transcriptome, proteome, evolution, epidemiology, pharmacology y drug development.

Para comparar la relación entre diferentes clases de toxinas venenosas en colúbridos, recuperamos datos de expresión de toxinas relevantes en trabajos publicados con especies de colúbridos (tanto proteómicos como transcriptómicos) [29,42,52,54,55,57,132]. Transformamos los datos en porcentajes para obtener valores comparables para las proporciones de cada clase de toxina. Los venenos se consideraron neurotóxicos o proteolíticos si >30% de las toxinas identificadas estaban vinculadas a esas actividades. Realizamos un análisis de reconstrucción del estado ancestral utilizando los parámetros predeterminados de la función fastAnc implementada en el paquete Phytools [138] en el software R utilizando la filogenia propuesta por Zaher et al. [9] para estimar la longitud de las ramas usando *Micrurus corallinus* y *Bothrops jararaca* como nuestros grupos externos.

Luego, construimos un árbol usando la función contMap en Phytools para representar la variación continua en las proporciones de toxinas para cada nodo usando un gradiente de color. Los datos de composición de *Micrurus* y *Bothrops* se obtuvieron de investigaciones previas [80,81]. Como estos datos se obtuvieron de varias investigaciones que implementaron diferentes metodologías, algunas de las cuales carecían de confirmación proteómica de las toxinas reportadas, nuestras comparaciones son meramente cualitativas y deben interpretarse con prudencia. Se necesita un conjunto de datos construido con más detalle para construir una visión sólida de la variación del veneno entre los colúbridos.

Los datos epidemiológicos se obtuvieron de la revisión manual de los informes del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA). En todos los casos se revisaron los casos anuales, las manifestaciones clínicas, la identificación de especies y el uso de antiveneno. Se consideró que una especie estaba identificada correctamente cuando el informe incluía su nombre científico completo o un nombre común suficientemente específico que permitiera clasificar a nivel de familia. Los casos anuales se graficaron usando el paquete PlotR desarrollado por Guisande-González [139], y los modelos de regresión lineal se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por Guisande-González et al. [140].

Referencias

1. Mackessy, S.P. *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles.*; 1st ed.; CRC Press: Boca Raton, **2021**.
2. Junqueira-De-Azevedo, I.L.M.; Bastos, C.M.V.; Ho, P.L.; Luna, M.S.; Yamanouye, N.; Casewell, N.R. Venom-Related Transcripts from *Bothrops jararaca* Tissues Provide Novel Molecular Insights into the Production and Evolution of Snake Venom. *Mol. Biol. Evol.* **2015**, *32*, 754–766, doi:10.1093/molbev/msu337.
3. Lomonte, B.; Rey-Suárez, P.; Fernández, J.; Sasa, M.; Pla, D.; Vargas, N.; Bénard-Valle, M.; Sanz, L.; Corrêa-Netto, C.; Núñez, V.; et al. Venoms of *Micrurus* Coral Snakes: Evolutionary Trends in Compositional Patterns Emerging from Proteomic Analyses. *Toxicon* **2016**, *122*, 7–25.
4. Bucarechi, F.; De Capitani, E.M.; Vieira, R.J.; Rodrigues, C.K.; Zannin, M.; Da Silva, N.J.; Casais-e-Silva, L.L.; Hyslop, S. Coral Snake Bites (*Micrurus* spp.) in Brazil: A Review of Literature Reports. *Clin. Toxicol.* **2016**, *54*, 222–234.
5. Oliveira, F.N.; Brito, M.T.; de Moraes, I.C.O.; Fook, S.M.L.; de Albuquerque, H.N. Accidents Caused by *Bothrops* and *Bothropoides* in the State of Paraíba: Epidemiological and Clinical Aspects. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2010**, *43*, 662–667, doi:10.1590/S0037-86822010000600012.
6. Kularatne, S.A.M.; Budagoda, B.D.S.S.; Gawarammana, I.B.; Kularatne, W.K.S. Epidemiology, Clinical Profile and Management Issues of Cobra (*Naja Naja*) Bites in Sri Lanka: First Authenticated Case Series. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2009**, *103*, 924–930, doi:10.1016/J.TRST-MH.2009.04.002.
7. Otero-Patiño, R. Epidemiological, Clinical and Therapeutic Aspects of *Bothrops asper* Bites. *Toxicon* **2009**, *54*, 998–1011, doi:10.1016/j.toxicon.2009.07.001.
8. Uetz, P.; Freed, P.; Hošek, J. The Reptile Database Available online: <https://reptile-database.reptarium.cz/> (accessed on 23 January 2024).
9. Zaher H, Murphy RW, Arredondo JC, Graboski R, Machado-Filho PR, Mahlow K, et al. Largescale molecular phylogeny, morphology, divergence-time estimation, and the fossil record of advanced caenophidian snakes (Squamata: Serpentes). *PLoS ONE* (2019) 14(5): e0216148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216148> PMID: 31075128
10. Peñuela-Gómez, S.M. El Abandono En La Investigación Toxinológica de Los Colúbridos Opistoglifos. *Mem. Conf. Interna Med. Aprovech. Fauna Silv. Exót. Conv.* **2010**, *0*, 24–26.
11. Junqueira-de-Azevedo, I.L.M.; Campos, P.F.; Ching, A.T.C.; Mackessy, S.P. Colubrid Venom Composition: An -Omics Perspective. *Toxins (Basel)*. **2016**, *8*, 1–24, doi:10.3390/toxins8080230.
12. Campbell, J.A.; Lamar, W.W.; Brodie, E.D.; others *The Venomous Reptiles of the Western Hemisphere*; Comstock Pub. Associates Ithaca [NY], **2004**; Vol. 1.
13. Kardong, K. V The Evolution of the Venom Apparatus in Snakes From Colubrids To Viperids & Elapids. *Mem. Inst. Butantan* **1982**, *4*, 106–118.
14. Kardong, K. V Colubrid Snakes and Duvernoy's "Venom" Glands. *J. Toxicol. - Toxin Rev.* **2002**, *21*, 1–19, doi:10.1081/TXR-120004739.
15. Jackson, T.N.W.; Young, B.; Underwood, G.; McCarthy, C.J.; Kochva, E.; Vidal, N.; van der Weerd, L.; Nabuurs, R.; Dobson, J.; Whitehead,

- D.; et al. Endless Forms Most Beautiful: The Evolution of Ophidian Oral Glands, Including the Venom System, and the Use of Appropriate Terminology for Homologous Structures. *Zoomorphology* **2016**, 136, 107–130, doi:10.1007/S00435-016-0332-9.
16. de Oliveira, L.; Jared, C.; da Costa Prudente, A.L.; Zaher, H.; Antoniazzi, M.M. Oral Glands in Dipsadine “Goo-Eater” Snakes: Morphology and Histochemistry of the Infralabial Glands in *Atractus reticulatus*, *Dipsas indica*, and *Sibynomorphus mikanii*. *Toxicon* **2008**, 51, 898–913, doi:10.1016/J.TOXICON.2007.12.021.
 17. Weinstein, S.A.; Warrell, D.A.; White, J.; Keyler, D.E. “Venomous? Bites from Non-Venomous Snakes: A Critical Analysis of Risk and Management of “Colubrid? Snake Bites (Livre Numérique Google). **2011**, 364.
 18. Gaiarsa, M.P.; de Alencar, L.R. V; Martins, M. Natural History of Pseudoboina Snakes. *Pap. Avulsos Zool.* **2013**, 53, 261–283, doi:10.1590/S0031-10492013001900001.
 19. Giraudo, A.R.; Arzamendia, V.; Bellini, G.P.; Bessa, C.A.; Costanzo, M.B. Ecología de Una Gran Serpiente Sudamericana, *Hydrodynastes gigas* (Serpentes: Dipsadidae). *Rev. Mex. Biodivers.* **2014**, 85, 1206–1216, doi:10.7550/rmb.43765.
 20. Todd, B.D.; Willson, J.D.; Winne, C.T.; Semlitsch, R.D.; Gibbons, J.W. Ecology of the Southeastern Crowned Snake, *Tantilla coronata*. *Copeia* **2008** (2), 388–394, (2008). doi:10.1643/CE-06-289.
 21. Marques, O.A. V; Muniz-Da-Silva, D.F.; Barbo, F.E.; Cardoso, S.R.T.; Maia, D.C.; Almeida-Santos, S.M. Ecology of the Colubrid Snake *Spilotes pullatus* from the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Herpetologica* **2014**, 70, 407–416, doi:10.1655/HERPETOLOGICA-D-14-00012.
 22. Corrêa, D.N. Ecologia Alimentar Das Serpentes Semi-Aquáticas *Erythrolamprus jaegeri jaegeri* (Günther, 1858) e *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus* (Cope, 1860) (Serpentes , Dipsadidae) Na Região Costeira Do Extremo Sul Do Brasil. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2016**, 88, (1), 293–308, <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140570>
 23. Barbo, F.E.; Marques, O.A. V; Sawaya, R.J. Diversity, Natural History, and Distribution of Snakes in the Municipality of São Paulo. *South Am. J. Herpetol.* **2011**, 6, 135–160, doi:10.2994/057.006.0301.
 24. Alencar, L.R. V; Gaiarsa, M.P.; Martins, M. The Evolution of Diet and Microhabitat Use in Pseudoboina Snakes. *S Am J Herpetol* **2013**, 8, 60–66, doi:10.2994/SAJH-D-13-00005.1.
 25. de Aguiar, L.F.S.; Di-Bernardo, M. Diet and Feeding Behavior of *Helicops infrataeniatus* (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) in Southern Brazil. *Stud. Neotrop. Fauna Environ* **2010**, 39, 7–14, doi:10.1080/01650520412331270927.
 26. Serna-Botero, V.; Marín-Martínez, M.; Velásquez-Guarín, D.; Ramírez-Chaves, H.E. Boyacá Spiny Rat, *Proechimys chrysaeolus* (Mammalia: Echimyidae), a New Prey Item of the Banded Calico Snake, *Oxyrhopus petolarius* (Reptilia: Dipsadidae). *Herpetol. Notes* **2019**, 12, 651–653.
 27. Henderson, R.W. Trophic Relationships and Foraging Strategies of Some New World Tree Snakes (*Leptophis*, *Oxybelis*, *Uromacer*). *Am-*

- phibia-Reptilia* **1982**, 3, 71–80, doi:10.1163/156853882X00185.
28. Modahl, C.M.; Mackessy, S.P. Venoms of Rear-Fanged Snakes: New Proteins and Novel Activities. *Front. Ecol. Evol.* **2019**, 7, 1–18, doi:10.3389/fevo.2019.00279.
 29. Modahl, C.M.; Mrinalini; Fietze, S.; Mackessy, S.P. Adaptive Evolution of Distinct Prey-Specific Toxin Genes in Rear-Fanged Snake Venom. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **2018**, 285, doi:10.1098/rspb.2018.1003.
 30. Sánchez, M.N.; Teibler, G.P.; López, C.A.; Mackessy, S.P.; Peichoto, M.E. Assessment of the Potential Toxicological Hazard of the Green Parrot Snake (*Leptophis ahaetulla marginatus*): Characterization of Its Venom and Venom-Delivery System. *Toxicon* **2018**, 148, 202–212, doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.027.
 31. Sánchez, M.N.; Teibler, G.P.; Sciani, J.M.; Casafús, M.G.; Maruñak, S.L.; Mackessy, S.P.; Peichoto, M.E. Unveiling Toxicological Aspects of Venom from the Aesculapian False Coral Snake *Erythrolamprus aesculapii*. *Toxicon* **2019**, 164, 71–81, doi:10.1016/j.toxicon.2019.04.007.
 32. Torres-Bonilla, K.A.; Andrade-Silva, D.; Serrano, S.M.T.; Hyslop, S. Biochemical Characterization of Venom from *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's False Boa; Xenodontinae; Pseudoboini). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* **2018**, 213, 27–38, doi:10.1016/J.CBPC.2018.06.003.
 33. Torres-Bonilla, K.A.; Schezaro-Ramos, R.; Floriano, R.S.; Rodrigues-Simioni, L.; Bernal-Bautista, M.H.; Alice da Cruz-Höfling, M. Biological Activities of *Leptodeira annulata* (Banded Cat-Eyed Snake) Venom on Vertebrate Neuromuscular Preparations. *Toxicon* **2016**, 119, 345–351, doi:10.1016/j.toxicon.2016.07.004.
 34. Torres-Bonilla, K.A.; Panunto, P.C.; Pereira, B.B.; Zambrano, D.F.; Herrán-Medina, J.; Bernal, M.H.; Hyslop, S. Toxinological Characterization of Venom from *Leptodeira annulata* (Banded Cat-Eyed Snake; Dipsadidae, Imantodini). *Biochimie* **2020**, 174, 171–188, doi:10.1016/J.BIOCHI.2020.04.006.
 35. Salomão, M.D.G.; Albolea, A.B.P.; Almeida Santos, S.M. Colubrid Snakebite: A Public Health Problem in Brazil. *Herpetol. Rev.* **2003**, 34, 307–312.
 36. Angarita-Sierra, T.; Montañez-Méndez, A.; Toro-Sánchez, T.; Rodríguez-Vargas, A.; Angarita-Sierra, T.; Montañez-Méndez, A.; Toro-Sánchez, T.; Rodríguez-Vargas, A. A Case of Envenomation by the False Fer-de-Lance Snake *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758) in the Department of La Guajira, Colombia. *Biomedica* **2020**, 40, 20–26, doi:10.7705/biomedica.4773.
 37. Hill, R.E.; Mackessy, S.P. Characterization of Venom (Duvernoy's Secretion) from Twelve Species of Colubrid Snakes and Partial Sequence of Four Venom Proteins. *Toxicon* **2000**, 38, 1663–1687, doi:10.1016/S0041-0101(00)00091-X.
 38. Hill, R.E.; Mackessy, S.P. Venom Yields from Several Species of Colubrid Snakes and Differential Effects of Ketamine. *Toxicon* **1997**, 35, 671–678, doi:10.1016/S0041-0101(96)00174-2.
 39. Mackessy, S.P. Biochemistry And Pharmacology Of Colubrid Snake Venoms. *J. Toxicol. Toxin Rev.* **2002**, 21, 43–83, doi:10.1081/TXR-120004741.
 40. Modahl, C.M.; Saviola, A.J.; Mackessy, S.P. Venom Genomics and Proteomics. *Venom Genomics and Proteomics* **2016**, 51–79, doi:10.1007/978-94-007-6416-3.

41. Peichoto, M.E.; Tavares, F.L.; Santoro, M.L.; MacKessy, S.P. Venom Proteomes of South and North American Opisthoglyphous (Colubridae and Dipsadidae) Snake Species: A Preliminary Approach to Understanding Their Biological Roles. *Comp. Biochem. Physiol. - Part D Genomics Proteomics* **2012**, *7*, 361–369, doi:10.1016/j.cbd.2012.08.001.
42. Bayona-Serrano, J.D.; Viala, V.L.; Rautsaw, R.M.; Schramer, T.D.; Barros-Carvalho, G.A.; Nishiyama, M.Y.; Freitas-de-Sousa, L.A.; Moura-da-Silva, A.M.; Parkinson, C.L.; Grazziotin, F.G.; et al. Replacement and Parallel Simplification of Nonhomologous Proteinases Maintain Venom Phenotypes in Rear-Fanged Snakes. *Mol. Biol. Evol.* **2020**, *37*, 3563–3575, doi:10.1093/MOLBEV/MSAA192.
43. Medeiros, C.R. de; Souza, S.N. de; Silva, M.C. da; Ventura, J. de S.; Piorelli, R. de O.; Puerto, G. Bites by Tomodon Dorsatus (Serpentes, Dipsadidae): Clinical and Epidemiological Study of 86 Cases. *Toxicon* **2019**, *162*, 40–45, doi:10.1016/j.toxicon.2019.03.005.
44. Diaz, F.; Navarrete, L.F.; Pefaur, J.; Rodriguez-Acosta, A. Envenomation by Neotropical Opisthoglyphous Colubrid *Thamnodynastes cf. pallidus* Linné, 1758 (Serpentes:Colubridae) in Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2004**, *46*, 287–290, doi:10.1590/S0036-46652004000500011.
45. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S. South American Colubrid Envenomations. *J. Toxicol. - Toxin Rev.* **2002**, *21*, 117–158.
46. Rebelato, M.M.; Ferri, V.Y.K.; Dalmolin, D.A.; Tozetti, A.M.; Verrastro, L. Envenomation by Opisthoglyphous Snake *Thamnodynastes hypoconia* (Cope, 1860) (Dipsadinae: Tachymenini) in Southern Brazil. *Toxicon* **2021**, *189*, 1–6, doi:10.1016/J.TOXICON.2020.10.022.
47. Gutiérrez, J.M.; Sasa, M. Bites and Envenomations by Colubrid Snakes in Mexico and Central America. *J. Toxicol. - Toxin Rev.* **2002**, *21*, 105–115, doi:10.1081/TXR-120004743.
48. Menegucci, R.C.; Bernarde, P.S.; Monteiro, W.M.; Bisneto, P.F.; Martins, M. Envenomation by an Opisthoglyphous Snake, *Erythrolamprus aesculapii* (Dipsadidae), in Southeastern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2019**, *52*, 0–2, doi:10.1590/0037-8682-0055-2019.
49. de Medeiros, C.R.; Hess, P.L.; Nicoleti, A.F.; Sueiro, L.R.; Duarte, M.R.; de Almeida-Santos, S.M.; França, F.O.S. Bites by the Colubrid Snake *Philodryas patagoniensis*: A Clinical and Epidemiological Study of 297 Cases. *Toxicon* **2010**, *56*, 1018–1024, doi:10.1016/j.toxicon.2010.07.006.
50. Oliveira, J.S.; Sant'Anna, L.B.; Oliveira Junior, M.C.; Souza, P.R.M.; Andrade Souza, A.S.; Ribeiro, W.; Vieira, R.P.; Hyslop, S.; Cogo, J.C. Local and Hematological Alterations Induced by *Philodryas olfersii* Snake Venom in Mice. *Toxicon* **2017**, *132*, 9–17, doi:10.1016/j.toxicon.2017.03.013.
51. Silva, K.V.; Said, R. do C.; Assy, J.G.P.L.; Duarte, M.R.; Torrez, P.P.Q.; França, F.O. de S. A Case of Envenomation Caused by *Oxybelis fulgidus* (Serpentes, Colubridae) in Brazilian Amazon. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2019**, *52*, doi:10.1590/0037-8682-0426-2018.
52. Hofmann, E.P.; Rautsaw, R.M.; Mason, A.J.; Strickland, J.L.; Parkinson, C.L. Duvernoy's Gland Transcriptomics of the Plains Black-Headed Snake, *Tantilla nigriceps* (Squamata, Colubridae): Unearthing the Venom of Small Rear-Fanged Snakes. *Toxins*, **2021**, *13*, 336, doi:10.3390/TOXINS13050336.

53. Ching, A.T.C.; Paes Leme, A.F.; Zelanis, A.; Rocha, M.M.T.; Furtado, M.D.F.D.; Silva, D.A.; Trugilho, M.R.O.; Da Rocha, S.L.G.; Perales, J.; Ho, P.L.; et al. Venomics Profiling of *Thamnodynastes strigatus* Unveils Matrix Metalloproteinases and Other Novel Proteins Recruited to the Toxin Arsenal of Rear-Fanged Snakes. *J. Proteome Res.* **2012**, *11*, 1152–1162, doi:10.1021/pr200876c.
54. Ching, A.T.C.; Rocha, M.M.T.; Paes Leme, A.F.; Pimenta, D.C.; de Fátima D. Furtado, M.; Serrano, S.M.T.; Ho, P.L.; Junqueira-de-Azevedo, I.L.M. Some Aspects of the Venom Proteome of the Colubridae Snake *Philodryas olfersii* Revealed from a Duvernoy's (Venom) Gland Transcriptome. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 4417–4422, doi:10.1016/J.FEBS-LET.2006.07.010.
55. Calvete, J.J.; Bonilla, F.; Granados-Martínez, S.; Sanz, L.; Lomonte, B.; Sasa, M. Venomics of the Duvernoy's Gland Secretion of the False Coral Snake *Rhinobothryum bovalli* (Andersson, 1916) and Assessment of Venom Lethality towards Synapsid and Diapsid Animal Models. *J. Proteomics* **2020**, *225*, 103882, doi:10.1016/J.JPROT.2020.103882.
56. Torres-Bonilla, K.A.; Floriano, R.S.; Schezaro-Ramos, R.; Rodrigues-Simioni, L.; da Cruz-Höfling, M.A. A Survey on Some Biochemical and Pharmacological Activities of Venom from Two Colombian Colubrid Snakes, *Erythrolamprus bizona* (Double-Banded Coral Snake Mimic) and *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's False Boa). *Toxicon* **2017**, *131*, 29–36, doi:10.1016/J.TOXICON.2017.02.030.
57. Domínguez-Pérez, D.; Durban, J.; Agüero-Chapin, G.; López, J.T.; Molina-Ruiz, R.; Almeida, D.; Calvete, J.J.; Vasconcelos, V.; Antunes, A. The Harderian Gland Transcriptomes of *Caraiba andreae*, *Cubophis cantherigerus* and *Tretanorhinus variabilis*, Three Colubroid Snakes from Cuba. *Genomics* **2019**, *111*, 1720–1727, doi:10.1016/J.YGENO.2018.11.026.
58. Modahl, C.M.; Fietze, S.; Mackessy, S.P. Transcriptome-Facilitated Proteomic Characterization of Rear-Fanged Snake Venoms Reveal Abundant Metalloproteinases with Enhanced Activity. *J. Proteomics* **2018**, *187*, 223–234, doi:10.1016/j.jprot.2018.08.004.
59. Pla, D.; Petras, D.; Saviola, A.J.; Modahl, C.M.; Sanz, L.; Pérez, A.; Juárez, E.; Fietze, S.; Dorrestein, P.C.; Mackessy, S.P.; et al. Transcriptomics-Guided Bottom-up and Top-down Venomics of Neonate and Adult Specimens of the Arboreal Rear-Fanged Brown Treesnake, *Boiga irregularis*, from Guam. *J. Proteomics* **2018**, *174*, 71–84, doi:10.1016/J.JPROT.2017.12.020.
60. Heyborne, W.H.; Mackessy, S.P. Venoms of New World Vinesnakes (*Oxybelis aeneus* and *O. fulgidus*). *Toxicon* **2021**, *190*, 22–30, doi:10.1016/J.TOXICON.2020.12.002.
61. Pla, D.; Sanz, L.; Whiteley, G.; Wagstaff, S.C.; Harrison, R.A.; Casewell, N.R.; Calvete, J.J. What Killed Karl Patterson Schmidt? Combined Venom Gland Transcriptomic, Venomic and Antivenomic Analysis of the South African Green Tree Snake (the Boomslang), *Dispholidus typus*. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2017**, *1861*, 814–823, doi:10.1016/J.BBAGEN.2017.01.020.
62. Kini, R.M.; Doley, R. Structure, Function and Evolution of Three-Finger Toxins: Mini Proteins with Multiple Targets. *Toxicon* **2010**, *56*, 855–867.

63. Modahl, C.M.; Mrinalini; Frietze, S.; Mackessy, S.P. Adaptive Evolution of Distinct Prey-Specific Toxin Genes in Rear-Fanged Snake Venom. *Proc. R. Soc. B* **2018**, *285*, doi:10.1098/RSPB.2018.1003.
64. Yamazaki, Y.; Morita, T. Structure and Function of Snake Venom Cysteine-Rich Secretory Proteins. *Toxicon* **2004**, *44*, 227–231, doi:10.1016/J.TOXICON.2004.05.023.
65. Tadokoro, T.; Modahl, C.M.; Maenaka, K.; Aoki-Shioi, N. Cysteine-Rich Secretory Proteins (CRISPs) from Venomous Snakes: An Overview of the Functional Diversity in a Large and Underappreciated Superfamily Toxins. **2020**, *12*, 175, doi:10.3390/TOXINS12030175.
66. Lu, Q.; Navdaev, A.; Clemetson, J.M.; Clemetson, K.J. Snake Venom C-Type Lectins Interacting with Platelet Receptors. Structure–Function Relationships and Effects on Haemostasis. *Toxicon* **2005**, *45*, 1089–1098, doi:10.1016/J.TOXICON.2005.02.022.
67. Rehorek, S.J. Squamate Harderian Gland: An Overview. *Anat. Rec.* **1997**, *248*, 301–306, doi:10.1002/(SICI)1097-0185(199707)248:3<301::AID-AR1>3.0.CO;2-S.
68. McDowell, S.B. Toxicocalamus, a New Guinea Genus of Snakes of the Family Elapidae. *J. Zool.* **1969**, *159*, 443–511, doi:10.1111/J.1469-7998.1969.TB03900.X.
69. Da Rocha, M.M.T.; Furtado, M.D.F.D. Analysis of Biological Activities from *Philodryas olfersii* (Lichtenstein) and *P. patagoniensis* (Girard) Venoms (Serpents, Colubridae). *Rev. Bras. Zool.* **2007**, *24*, 410–418, doi:10.5380/rbz.v24i2.8468.
70. Pérez, O.A. De; Vila, L.L. De; Peichoto, M.E.; Maruñak, S.; Ruiz, R.; Teibler, P.; Gay, C.; Rey, L. Edematogenic and Myotoxic Activities of the Duvernoy ' s Gland Secretion of *Philodryas olfersii* from the North-East Region Of. *World Health* **2003**, *27*, 363–370.
71. Lemoine, K.; Salgueiro, L.M.; Rodríguez-Acosta, A.; Acosta, J.A. Neurotoxic, Hemorrhagic and Proteolytic Activities of Duvernoy's Gland Secretion from Venezuelan Opisthoglyphous Colubrid Snakes in Mice. *Vet. Hum. Toxicol.* **2004**, *46*, 10–14.
72. Estrella, A.; Sánchez, E.E.; Galán, J.A.; Tao, W.A.; Guerrero, B.; Navarrete, L.F.; Rodríguez-Acosta, A. Characterization of Toxins from the Broad-Banded Water Snake *Helicops angulatus* (Linnaeus, 1758): Isolation of a Cysteine-Rich Secretory Protein, Helicopsin. *Arch. Toxicol.* **2011**, *85*, 305–313, doi:10.1007/s00204-010-0597-6.
73. Cerda, P. A., Crowe-Riddell, J. M., Gonçalves, D. J., Larson, D. A., Duda Jr, T. F., & Davis Rabosky, A. R. (2022). Divergent specialization of simple venom gene profiles among rear-fanged snake genera (Helicops and Leptodeira, Dipsadinae, Colubridae). *Toxins*, *14*(7), 489.
74. Six, D.A.; Dennis, E.A. The Expanding Superfamily of Phospholipase A2 Enzymes: Classification and Characterization. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **2000**, *1488*, 1–19, doi:10.1016/S1388-1981(00)00105-0.
75. Campos, P.F.; Andrade-Silva, D.; Zelanis, A.; Leme, A.F.P.; Rocha, M.M.T.; Menezes, M.C.; Serrano, S.M.T.; Junqueira-De-Azevedo, I.D.L.M. Trends in the Evolution of Snake Toxins Underscored by an Integrative Omics Approach to Profile the Venom of the Colubrid *Phalotris mertensi*. *Genome Biol. Evol.* **2016**, *8*, 2266–2287, doi:10.1093/gbe/evw149.

76. Brust, A.; Sunagar, K.; Undheim, E.A.B.; Vetter, I.; Yang, D.C.; Casewell, N.R.; Jackson, T.N.W.; Koludarov, I.; Alewood, P.F.; Hodgson, W.C.; et al. Differential Evolution and Neofunctionalization of Snake Venom Metalloprotease Domains. *Mol. Cell. Proteomics* **2013**, *12*, 651–663, doi:10.1074/mcp.M112.023135.
77. Casewell, N.R.; Wagstaff, S.C.; Harrison, R.A.; Renjifo, C.; Wüster, W. Domain Loss Facilitates Accelerated Evolution and Neofunctionalization of Duplicate Snake Venom Metalloproteinase Toxin Genes. *Mol. Biol. Evol.* **2011**, *28*, 2637–2649, doi:10.1093/molbev/msr091.
78. Sanz, L.; Calvete, J.J. Insights into the Evolution of a Snake Venom Multi-Gene Family from the Genomic Organization of *Echis ocellatus* SVMP Genes. *Toxins (Basel)*. **2016**, *8*, doi:10.3390/toxins8070216.
79. Sanz, L.; Harrison, R.A.; Calvete, J.J. First Draft of the Genomic Organization of a PIII-SVMP Gene. *Toxicon* **2012**, *60*, 455–469, doi:10.1016/j.toxicon.2012.04.331.
80. Cidade, D.A.P.; Simão, T.A.; Dávila, A.M.R.; Wagner, G.; de L.M. Junqueira-de-Azevedo, I.; Lee Ho, P.; Bon, C.; Zingali, R.B.; Albano, R.M. *Bothrops jararaca* Venom Gland Transcriptome: Analysis of the Gene Expression Pattern. *Toxicon* **2006**, *48*, 437–461, doi:10.1016/J.TOXICON.2006.07.008.
81. Corrêa-Netto, C.; Junqueira-de-Azevedo, I. de L.M.; Silva, D.A.; Ho, P.L.; Leitão-de-Araújo, M.; Alves, M.L.M.; Sanz, L.; Foguel, D.; Zingali, R.B.; Calvete, J.J. Snake Venomics and Venom Gland Transcriptomic Analysis of Brazilian Coral Snakes, *Micrurus altirostris* and *M. corallinus*. *J. Proteomics* **2011**, *74*, 1795–1809, doi:10.1016/J.JPROT.2011.04.003.
82. Tasoulis, T.; Lee, M.S.Y.; Ziajko, M.; Dunstan, N.; Sumner, J.; Isbister, G.K. Activity of Two Key Toxin Groups in Australian Elapid Venoms Show a Strong Correlation to Phylogeny but Not to Diet. *BMC Evol. Biol.* **2020**, *20*, 1–13, doi:10.1186/S12862-020-1578-X/FIGURES/7.
83. True, J.R.; Carroll, S.B. Gene Co-Option in Physiological and Morphological Evolution. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2002**, *18*, 53–80, doi:10.1146/annurev.cellbio.18.020402.140619.
84. Weinstein, S.A.; White, J.; Keyler, D.E.; Warrell, D.A. Non-Front-Fanged Colubroid Snakes: A Current Evidence-Based Analysis of Medical Significance. *Toxicon* **2013**, *69*, 103–113, doi:10.1016/J.TOXICON.2013.02.003.
85. Ribeiro, L.A.; Puorto, G.; Jorge, M.T. Bites by the Colubrid Snake *Philodryas olfersii*: A Clinical and Epidemiological Study of 43 Cases. *Toxicon* **1999**, *37*, 943–948, doi:10.1016/S0041-0101(98)00191-3.
86. Sevilla-Sánchez, M.J.; Ayerbe-González, S.; Bolaños-Bolaños, E. Aspectos Biomédicos y Epidemiológicos Del Accidente Ofídico En El Departamento Del Cauca, Colombia, 2009–2018. *Biomédica* **2021**, *41*, 314–337, doi:10.7705/BIOMEDICA.5853.
87. De Silva, H.A.; Ryan, N.M.; De Silva, H.J. Adverse Reactions to Snake Antivenom, and Their Prevention and Treatment. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2016**, *81*, 446–452, doi:10.1111/BCP.12739.
88. Koh, C.Y.; Kini, R.M. From Snake Venom Toxins to Therapeutics - Cardiovascular Examples. *Toxicon* **2012**, *59*, 497–506, doi:10.1016/j.toxicon.2011.03.017.
89. Pal, S.K.; Gomes, A.A.; Dasgupta, S.C.; Gomes, A.A. Snake Venom as Therapeutic Agents: From Toxin to Drug Development. *IJEB Vol.40(12) [December 2002]* **2002**.

90. Fox, J.; Serrano, S. Approaching the Golden Age of Natural Product Pharmaceuticals from Venom Libraries: An Overview of Toxins and Toxin-Derivatives Currently Involved in Therapeutic or Diagnostic Applications. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, *13*, 2927–2934, doi:10.2174/138161207782023739.
91. Barua, A.; Mikheyev, A.S. Many Options, Few Solutions: Over 60 My Snakes Converged on a Few Optimal Venom Formulations. *Mol. Biol. Evol.* **2019**, *36*, 1964–1974, doi:10.1093/molbev/msz125.
92. J., A.; Ohno, S. Evolution by Gene Duplication. *Popul. (French Ed.* **1971**, *26*, 1176, doi:10.2307/1530208.
93. Vonk, F.J.; Casewell, N.R.; Henkel, C. V.; Heimberg, A.M.; Jansen, H.J.; McCleary, R.J.R.; Kerkkamp, H.M.E.; Vos, R.A.; Guerreiro, I.; Calvete, J.J.; et al. The King Cobra Genome Reveals Dynamic Gene Evolution and Adaptation in the Snake Venom System. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 20651–20656, doi:10.1073/pnas.1314702110.
94. Bazaa, A.; Juárez, P.; Marrakchi, N.; Lasfer, Z.B.; Ayeb, M. El; Harrison, R.A.; Calvete, J.J.; Sanz, L. Loss of Introns along the Evolutionary Diversification Pathway of Snake Venom Disintegrins Evidenced by Sequence Analysis of Genomic DNA from *Macrovipera lebetina* Transmediterranea and *Echis ocellatus*. *J. Mol. Evol.* **2007**, *64*, 261–271, doi:10.1007/s00239-006-0161-4.
95. Stenseth, N.C. Where Have All the Species Gone? On the Nature of Extinction and the Red Queen Hypothesis. *Oikos* **1979**, *33*, 196, doi:10.2307/3543998.
96. Kerfoot, W.C.; Weider, L.J. Experimental Paleoecology (Resurrection Ecology): Chasing Van Valen's Red Queen Hypothesis. *Limnol. Oceanogr.* **2004**, *49*, 1300–1316, doi:10.4319/lo.2004.49.4_part_2.1300.
97. Holding, M.L.; Drabeck, D.H.; Jansa, S.A.; Gibbs, H.L. Venom Resistance as a Model for Understanding the Molecular Basis of Complex Coevolutionary Adaptations. *Integr. Comp. Biol.* **2016**, *56*, 1032–1043, doi:10.1093/icb/icw082.
98. Voss, R.S.; Jansa, S.A. Snake-Venom Resistance as a Mammalian Trophic Adaptation: Lessons from *Didelphis marsupialis*. *Biol. Rev.* **2012**, *87*, 822–837, doi:10.1111/j.1469-185X.2012.00222.x.
99. Khan, M.A.; Dashevsky, D.; Kerkkamp, H.; Kordiš, D.; de Bakker, M.A.G.; Wouters, R.; van Thiel, J.; op den Brouw, B.; Vonk, F.; Manjunatha Kini, R.; et al. Widespread Evolution of Molecular Resistance to Snake Venom α -Neurotoxins in Vertebrates. *Toxins* **2020**, *12*, 638, doi:10.3390/TOXINS12100638.
100. Gan, Z.R.; Gould, R.J.; Jacobs, J.W.; Friedman, P.A.; Polokoff, M.A. Echistatin. A Potent Platelet Aggregation Inhibitor from the Venom of the Viper, *Echis carinatus*. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 19827–19832, doi:10.1016/s0021-9258(19)77710-2.
101. Markland, F.S. Snake Venoms and the Hemostatic System. *Toxicon* **1998**, *36*, 1749–1800, doi:10.1016/S0041-0101(98)00126-3.
102. Scarborough, R.M.; Rose, J.W.; Naughton, M.A.; Phillips, D.R.; Nannizzi, L.; Arfsten, A.; Campbell, A.M.; Charo, I.F. Characterization of the Integrin Specificities of Disintegrins Isolated from American Pit Viper Venoms. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 1058–1065, doi:10.1016/s0021-9258(18)54041-2.

103. Saviola, A.J.; Peichoto, M.E.; Mackessy, S.P. Rear-Fanged Snake Venoms: An Untapped Source of Novel Compounds and Potential Drug Leads. *Toxin Rev.* **2014**, *33*, 185–201, doi:10.3109/15569543.2014.942040.
104. Badari, J.C.; Díaz-Roa, A.; Teixeira Rocha, M.M.; Mendonça, R.Z.; Silva Junior, P.I. da Patagonin-CRiSP: Antimicrobial Activity and Source of Antimicrobial Molecules in Duvernoy's Gland Secretion (*Philodryas Patagoniensis* Snake). *Front. Pharmacol.* **2021**, *11*, 2374, doi:10.3389/FPHAR.2020.586705/BIBTEX.
105. Peichoto, M.E.; Mackessy, S.P.; Teibler, P.; Tavares, F.L.; Burckhardt, P.L.; Breno, M.C.; Acosta, O.; Santoro, M.L. Purification and Characterization of a Cysteine-Rich Secretory Protein from *Philodryas patagoniensis* Snake Venom. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* **2009**, *150*, 79–84, doi:10.1016/J.CBPC.2009.03.002.
106. Angarita-Sierra, T.; Montañez-Méndez, A.; Toro-Sánchez, T.; Rodríguez-Vargas, A. A Case of Envenomation by the False Fer-de-Lance Snake *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758) in the Guajira Department, Colombia. *Biomédica* **2020**, *40* 20–26. doi: 10.7705/biomedica.4773.
107. Angarita-Corzo, K.; García-Peluffo, J.D.; Franco-Gutiérrez, M. Case Report of Human Envenomation by a False Coralsnake, *Erythrolamprus bizona* Jan, 1863. *Herpetol. Notes* **2023**, *16*, 627–631.
108. Barrio-Amorós, C.L. On the Taxonomy of Snakes in the Genus *Leptodeira*, with an Emphasis on Costa Rican Species. *Reptil. Amphib.* **2019**, *26*, 1–15, doi:10.17161/RANDA.V26I1.14321.
109. Gorzula, S. *Leptodeira annulata ashmedeadii* Envenomation. *Herpetol. Rev.* **1982**, *13*, 47.
110. Rodríguez-González, L.A.; Portillo-Portillo, P.A. Evaluación de La Actividad Neurotóxica de La Secreción Salival de *Erythrolamprus bizona* y *Leptophis ahaetulla* Serpientes Opistoglifas En Nervio Ciático de Bufo Marinus, Universidad del Quindío, **2006**.
111. Heyborne, W.H.; Mackessy, S.P. Identification and Characterization of a Taxon-Specific Three-Finger Toxin from the Venom of the Green Vinesnake (*Oxybelis Fulgidus*; Family Colubridae). *Biochimie* **2013**, *95*, 1923–1932, doi:10.1016/J.BIOCHI.2013.06.025.
112. Crimmins, M.L. A Case of Oxybelis Poisoning in Man. *Copeia* **1937**, *1937*, 233, doi:10.2307/1436270.
113. Babo Martins, S.; Bolon, I.; Chappuis, F.; Ray, N.; Alcoba, G.; Ochoa, C.; Kumar Sharma, S.; Nkweschue, A.S.; Wanda, F.; Durso, A.M.; et al. Snakebite and Its Impact in Rural Communities: The Need for a One Health Approach. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13*, e0007608, doi:10.1371/journal.pntd.0007608.
114. Lette-Pinto, R.N.; Da Silva, N.J.; Aird, S.D. Human envenomation by the South American opisthoglyph *Clelia clelia plumbea* (Wied). *Toxicon* **1991**, *29*, 1512–1516, doi:https://doi.org/10.1016/0041-0101(91)90008-f.
115. de Araújo, M.E.; dos Santos, A.C.M.C.A. Cases of Human Envenoming Caused by *Philodryas olfersii* and *Philodryas patagoniensis* (Serpentes: Colubridae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **1997**, *30*, 517–519, doi:10.1590/S0037-86821997000600013.
116. Fowler, I.R.; Salomão, M. da G. Activity Patterns in the Colubrid Snake Genus *Philodryas* and Their Relationship to Reproduction and Snakebite. *Bull. Chicago Herpetol. Soc.* **1994**, *29*, 229–232.

117. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S. South American colubrid envenomations. <http://dx.doi.org/10.1081/TXR-120004744> **2002**, 21, 117–158, doi:10.1081/TXR-120004744.
118. Salomao, M.A.; Pinto-Albolea, A.B.; Almeida-Santos, S.M. Colubrid Snakebite: A Public Health Problem in Brazil. *Herpetol. Rev.* **2003**, 34, 307–312.
119. Mandelbaum, F.R.; Reichl, A.P.; Assakura, M.T.; Serrano, S.M.T. *Philodryas* Venom Metalloproteinases. *Handb. Proteolytic Enzym. Second Ed.* **2004**, 1, 701–702, doi:10.1016/B978-0-12-079611-3.50210-X.
120. Peichoto, M.E.; Teibler, P.; Mackessy, S.P.; Leiva, L.; Acosta, O.; Gonçalves, L.R.C.; Tanaka-Azevedo, A.M.; Santoro, M.L. Purification and Characterization of Patagonfibrase, a Metalloproteinase Showing α -Fibrinogenolytic and Hemorrhagic Activities, from *Philodryas patagoniensis* Snake Venom. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2007**, 1770, 810–819, doi:10.1016/J.BBAGEN.2006.12.014.
121. Acosta de Pérez, O.; Leiva de Vila, L.; Peichoto, M.; Maruñak, S.L.; Ruiz, R.; Teibler, P.; Gay, C.; Rey, L. Edematogenic and Myotoxic Activities of the Duvernoy's Gland Secretion of *Philodryas olfersii* from the North-East Region Of. *BIOCELL* **2003**, 27, 363–370.
122. Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Mandelbaum, F.R. Isolation and Characterization of Five Fibrin(Ogen) Olytic Enzymes from the Venom of *Philodryas olfersii* (Green Snake). *Toxicon* **1994**, 32, 819–831, doi:10.1016/0041-0101(94)90007-8.
123. Assakura, M.T.; Salomão, M. da G.; Puerto, G.; Mandelbaum, F.R. Hemorrhagic, Fibrinogenolytic and Edema-Forming Activities of the Venom of the Colubrid Snake *Philodryas olfersii* (Green Snake). *Toxicon* **1992**, 30, 427–438, doi:10.1016/0041-0101(92)90539-H.
124. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S.; Cogo, J.C.; Andrade, A.L.; Assakura, M.; Cruz-Höfling, M.A.; Rodrigues-Simioni, L. The Effects of Duvernoy's Gland Secretion from the Xenodontine Colubrid *Philodryas olfersii* on Striated Muscle and the Neuromuscular Junction: Partial Characterization of a Neuromuscular Fraction. *Toxicon* **1996**, 34, 459–466, doi:10.1016/0041-0101(95)00146-8.
125. Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S.; Cogo, J.C.; Andrade, A.L.; Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Cruz-Höfling, M.A.; Rodrigues-Simioni, L. Characterization of a Myotoxin from the Duvernoy's Gland Secretion of the Xenodontine Colubrid *Philodryas olfersii* (Green Snake): Effects on Striated Muscle and the Neuromuscular Junction. *Toxicon* **1998**, 36, 1407–1421, doi:10.1016/S0041-0101(98)00075-0.
126. Assakura, M.T.; Reichl, A.P.; Mandelbaum, F.R. Isolation and Characterization of Five Fibrin(Ogen) Olytic Enzymes from the Venom of *Philodryas olfersii* (Green Snake). *Toxicon* **1994**, 32, 819–831, doi:10.1016/0041-0101(94)90007-8.
127. Peichoto, M.E.; Tavares, F.L.; Santoro, M.L.; MacKessy, S.P. Venom Proteomes of South and North American Opisthoglyphous (Colubridae and Dipsadidae) Snake Species: A Preliminary Approach to Understanding Their Biological Roles. *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics* **2012**, 7, 361–369, doi:10.1016/J.CBD.2012.08.001.
128. Oliveira, J.S.; Sant'Anna, L.B.; Oliveira Junior, M.C.; Souza, P.R.M.; Andrade Souza, A.S.; Ribeiro, W.; Vieira, R.P.; Hyslop, S.; Cogo, J.C.

- Local and Hematological Alterations Induced by *Philodryas olfersii* Snake Venom in Mice. *Toxicon* **2017**, 132, 9–17, doi:10.1016/J.TOXICON.2017.03.013.
129. Torres-Bonilla, K.A.; Andrade-Silva, D.; Serrano, S.M.T.; Hyslop, S. Biochemical Characterization of Venom from *Pseudoboa neuwiedii* (Neuwied's False Boa; Xenodontinae; Pseudoboini). *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* **2018**, 213, 27–38, doi:10.1016/j.cbpc.2018.06.003.
130. Lemoine, K.; Girón, M.E.; Aguilar, I.; Navarrete, L.F.; Rodríguez-Acosta, A. Proteolytic, Hemorrhagic, and Neurotoxic Activities Caused by *Lep-todeira annulata ashmeadii* (Serpentes: Colubridae) Duvernoy's Gland Secretion. *Wilderness Environ. Med.* **2004**, 15, 82–89, doi:10.1580/1080-6032(2004)015[0082:PHANAC]2.0.CO;2.
131. Diaz, F.; Navarrete, L.F.; Pefaur, J.; Rodríguez-Acosta, A. Envenomation by Neotropical Opisthophis Colubrid *Thamnodynastes cf. pallidus* Linné, 1758 (Serpentes:Colubridae) in Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2004**, 46, 287–290, doi:10.1590/S0036-46652004000500011.
132. Ching, A.T.C.; Leme, A.F.P.; Zelanis, A.; Rocha, M.M.T.; Furtado, M. de F.D.; Silva, D.A.; Trugilho, M.R.O.; da Rocha, S.L.G.; Perales, J.; Ho, P.L.; et al. Venomics Profiling of *Thamnodynastes strigatus* Unveils Matrix Metalloproteinases and Other Novel Proteins Recruited to the Toxin Arsenal of Rear-Fanged Snakes. *J. Proteome Res.* **2012**, 11, 1152–1162, doi:10.1021/PR200876C.
133. Walls Gordon L. (Gordon Lynn) *The Vertebrate Eye and Its Adaptive Radiation*; Bloomfield Hills, Mich.,Cranbrook Institute of Science, **1942**.
134. Bhaumik, S.; Jagadesh, S.; Lassi, Z. Quality of WHO Guidelines on Snakebite: The Neglect Continues. *BMJ Glob. Heal.* **2018**, 3, doi:10.1136/bmjgh-2018-000783.
135. Organization, W.H. *Snakebite Envenoming: A Strategy for Prevention and Control: Executive Summary*; World Health Organization, **2019**.
136. Lynch, J.D. El Contexto de las Serpientes de Colombia Con Un Análisis De Las Amenazas En Contra De Su Conservación. *Rev. Colomb. Cienc.*, **2012**, 36 (140), 435–449
137. Lynch, J.D.; Angarita, T.; Ruiz, F.J. *Programa Nacional Para La Conservación de Las Serpientes Presentes En Colombia*; Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, **2014**.
138. Revell, L.J. Phytools: An R Package for Phylogenetic Comparative Biology (and Other Things). *Methods Ecol. Evol.* **2012**, 3, 217–223, doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x.
139. Guisande-González, C. Plots with R: Package 'PlotsR' **2020**, 368.
140. Guisande-González, C.; Vaamonde-Liste, B.; Barreiro-Felpeto, A. Rwizard **2014**, 1–452.

